



ХИМИЧЕСКИЙ
ФАКУЛЬТЕТ
МГУ ИМЕНИ
М.В. ЛОМОНОСОВА



teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

ПРОИЗВОДСТВО ИЗОТОПОВ И ЯДЕРНАЯ МЕДИЦИНА

БАДУН
ГЕННАДИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ

ХИМФАК МГУ

КОНСПЕКТ ПОДГОТОВЛЕН
СТУДЕНТАМИ, НЕ ПРОХОДИЛ
ПРОФ. РЕДАКТУРУ И МОЖЕТ
СОДЕРЖАТЬ ОШИБКИ.
СЛЕДИТЕ ЗА ОБНОВЛЕНИЯМИ
НА [VK.COM/TEACHINMSU](https://vk.com/teachinmsu).

ЕСЛИ ВЫ ОБНАРУЖИЛИ
ОШИБКИ ИЛИ ОПЕЧАТКИ,
ТО СООБЩИТЕ ОБ ЭТОМ,
НАПИСАВ СООБЩЕСТВУ
[VK.COM/TEACHINMSU](https://vk.com/teachinmsu).



БЛАГОДАРИМ ЗА ПОДГОТОВКУ КОНСПЕКТА
СТУДЕНТКУ БИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА МГУ
БАХУРИНУ ЛЮБОВЬ ДМИТРИЕВНУ



Содержание

Лекция 1. Ядерная медицина	5
Радионуклиды биогенных элементов	5
Радиоактивный распад	6
Радионуклидная диагностика. Основные понятия	8
Применение радионуклидов для диагностики	9
Лекция 2. Получение радионуклидов для ПЭТ-диагностики	18
Меченые соединения	18
Радиофармацевтический препарат	20
Циклотрон	21
Кинетика накопления продуктов ядерной реакции	25
Сечение реакции	27
Лекция 3. Синтез РФП на основе ^{18}F	32
Методы получения фтора-18	33
Алифатическое нуклеофильное фторирование	35
Ароматическое нуклеофильное фторирование	40
Лекция 4. Радионуклиды биогенных элементов	45
Получение кислорода-15	45
Получение азота-13	46
РФП на основе радионуклида ^{11}C	47
Изотопное и неизотопное введение метки	49
РФП на основе метионина	54
РФП на основе холина	55
ПЭТ в кардиологии	57
Лекция 5. Радионуклидный генератор	60
Последовательный распад и генетические пары радионуклидов	60
Радионуклидные генераторы	62
Радионуклидный генератор $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$	65
Радионуклидный генератор $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$	66
Радионуклидный генератор $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$	74
Радионуклидный генератор $^{113}\text{Sn}/^{113\text{m}}\text{In}$	74
Радионуклидный генератор $^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$	75
Радионуклидный генератор $^{44}\text{Ti}/^{44}\text{Sc}$	75

Лекция 6. Создание современных радиофармпрепаратов.....	76
Радиофармацевтические препараты	76
Радионуклиды для ядерной медицины.....	77
Позитронно-эмиссионная томография	79
РФП первого поколения.....	80
РФП второго поколения.....	81
Лекция 7. Радиофармпрепараты третьего поколения.....	83
Создание современных препаратов для ПЭТ/ОФЭКТ	83
Выбор лиганда-вектора.....	84
Выбор радионуклида.....	86
Влияние линкера.....	87
Выбор и влияние хелатирующего агента	88
Другие способы модификации молекулы РФП.....	88
Лекция 8. Контроль качества РФП	90
Восстановление пертехнетата ^{99m}Tc	91
Контроль качества РФ(Л)П	93
Лекция 9. Радионуклидная терапия.....	97
Истинная эндорadiотерапия.....	98
Терапевтические РФП 1 поколения.....	98
Терапевтические РФП 2 поколения.....	99
РФП для внутриартериальной РНТ	101

Лекция 1. Ядерная медицина

Радионуклиды биогенных элементов.

Для создания наиболее подходящего по свойствам препарата для диагностики надо взять молекулу, которая есть в организме и обладает определённым биологическим действием, и заменить стабильный изотоп на радиоактивный. Тогда мы получим наиболее адекватный препарат, свойства которого максимально близки к свойствам природного соединения. Но так как число радионуклидов намного больше, чем элементов (у каждого элемента есть несколько радионуклидов), и мы можем использовать элементы, которые обычно не рассматриваются, как биогенные (которые не участвуют в метаболизме). Например, элемент технеций только радиоактивный. Но синтезированные соединения технеция мы можем использовать в целях исследования состояния организма пациента, зная свойства этих веществ.

Ядерная медицина и химия, с которой она связана. Все ли способы использования ионизирующего излучения подходят под это понятие? Безусловно, радиация и радиоактивность широко применяется в ядерной медицине. Когда Рентген открыл излучение, которое носит его имя, то обнаружил, что оно проникает через многие предметы, которые не пропускают свет, и получил рентгенограмму своей руки. Этот подход сразу получил применение в медицине. Но такое внешнее облучение организмов ионизирующим излучением не является областью ядерной медицины. Или когда мы используем потоки заряженных частиц или потоки фотонов для лечения, или потоки протонов или гамма-излучение кобальта для лечения опухолей, это широко используемый в медицине приём для лечения, но тоже не относится к ядерной медицине. А что относится:

В случае диагностики: если есть меченое соединение, содержащее радионуклид, и это вещество вводится в пациента. Потом вы получаете информацию, как это вещество распределяется в организме.

- по скорости его накопления в разных органах
- по концентрации в органах
- по скорости выведения

Можно сказать нормально функционирует орган или нет. В этом случае мы имеем дело с открытым источником излучения, то есть меченым препаратом. Это уже область ядерной медицины. Есть 2 варианта. Если мы применяем радионуклиды, которые испускают гамма-излучение, тогда имеем дело с регистрацией именно этих фотонов, вылетающих из организма. Мы не сможем использовать альфа-излучение и мягкое бета-излучение для определения концентрации вещества в организме, так как у них очень маленький пробег. Альфа точно не выходит из организма, а бета, сильно

ослабляясь, только с большой энергией может покинуть его. Поэтому для определения содержания вещества в организме мы всегда будем использовать проникающую радиацию, а именно фотоны с определённой энергией.

В случае бета-распада, если испускается позитрон, то позитрон, потеряв свою энергию, аннигилирует с электроном и образуется уже два фотона с энергией 511 КэВ.

Соответственно, эти фотоны тоже будут покидать организм, и мы их тоже можем зарегистрировать. Эти два варианта получения информации о распределении веществ в организме относятся к области ядерной медицины.

Для терапии можно использовать те излучения, которые имеют ограниченный пробег в тканях. Это прежде всего альфа-излучение, можно использовать бета-излучение или последствия электронного захвата (случай, когда испускается электроны, которые имеют маленький диапазон распространения и задают локально высокую дозу). Если нам нужно задать высокую дозу локально в органе, который требует лечения, то мы применяем такие меченые вещества, радиофармпрепараты, для лечения. Тогда должны быть использованы нуклиды, обладающие другим типом распада.

Радиоактивный распад

Применение радионуклидов в медицине основано на использовании нестабильных радиоактивных изотопов элементов

Радиоактивный распад – следствие процессов, происходящих в атомных ядрах. В ходе радиоактивного распада испускается частица с большой энергией. Все процессы, происходящие в ядре, связаны с тем, что ядро – компактное образование, имеющее размер несколько фемтометров (10^{-14} м). Диаметр ядер 4-16 фм (${}^4\text{He}$ - ${}^{238}\text{U}$)

$$R = r_0 A^{1/3}$$

$$r_0 = 1,25 \text{ фм}$$

Нуклоны в ядре плотно упакованы. Плотность вещества достигает $2 \cdot 10^{17}$ кг/м³. А силы, удерживающие нуклоны в ядре, намного превосходят силы, которые химики используют в случае проведения химических реакций.

Энергия связи нуклонов в ядре составляет несколько МэВ на нуклон. 1-9 МэВ/нуклон (0,1-0,9 ТДж/моль). В отличие от энергии связи внешних электронов (единицы-десятки эВ). Такие большие энергии и высокие потенциалы приводят к тому, что процесс радиоактивного распада, который происходит самопроизвольно, не зависит от внешних условий (температура, давление и др). Скорость этого распада остаётся постоянной. Мы повлиять не можем.

Закон радиоактивного распада говорит о том, что скорость радиоактивного распада ядер строго пропорционален числу этих ядер, а постоянная распада характеризует вероятность этого распада в единицу времени.

$$\frac{dN}{dt} = -\lambda N$$

λ - постоянная распада [с^{-1}]

Радиоактивность – мера количества вещества. Измерение радиоактивности позволяет определить концентрацию вещества.

$$A = -\frac{dN}{dt} = \lambda N$$

$$A = A_0 \exp(-\lambda t)$$

$$\ln\left(\frac{A_0}{A}\right) = \lambda t$$

Период полураспада $T_{1/2}$ (для $t = T_{1/2}$, $A = 1/2 A_0$)

$$\ln 2 = \lambda T_{1/2}$$

Радияция является опасным явлением, и, если мы хотим нанести минимальный вред, нужно минимизировать её воздействие на организм. Чем быстрее распадается нуклид, тем меньше остаточная доза в организме после проведения процедуры лечения или диагностики. Поэтому чаще всего в медицине используют короткоживущие нуклиды, период полураспада которых составляет минуты, часы или сутки.

Удельная радиоактивность и предел обнаружения меченых соединений

Нуклид	$T_{1/2}$	Тип распада	E_{\max} , МэВ	р/акт 1 моль	Предел обнаружения*
^{14}C	5730 лет	β^+	0,16	2,3 ТБк	44 пмоль/л
^3H	12,4 лет	β^+	0,018	1,07 ПБк	94 фмоль/л
^{131}I	8 сут	β^+ (γ)	0,61	0,6 ЭБк	166 амоль/л
^{67}Ga	3,3 сут	ЭЗ (γ)	0,09-0,3	1,5 ЭБк	67 амоль/л
$^{99\text{m}}\text{Te}$	6 ч	γ	0,14	19 ЭБк	5,2 амоль/л
^{18}F	109 мин	β^+	0,64 (γ)	64 ЭБк	1,6 амоль/л
^{68}Ga	68 мин	β^+	1,9 (γ)	103 ЭБк	1,0 амоль/л
^{11}C	20,4 мин	β^+	0,96 (γ)	341 ЭБк	0,3 амоль/л

*для удельной радиоактивности раствора 100 Бк/л

Если синтезируем меченые соединения для того, чтобы разработать новое лекарственное средство, то, как инструмент, можно использовать радиоактивные вещества. Углерод-14 и тритий в этом случае вполне могут быть использованы.

Начиная с йода, в таблице представлены радионуклиды, которые применяются в ядерной медицине.

Метастабильное состояние технеция-99m, который просто переходит в своё обычное состояние с испусканием гамма-квантов.

Две последние колонки говорят о том, что в случае использования таких не очень долгоживущих нуклидов, удельная активность меченых препаратов будет высока.

Самым короткоживущим радионуклидам соответствуют мощные активности и высокая чувствительность.

Эти данные приведены для веществ без носителя. В них нет других молекул, которые нерадиоактивны. Чаще всего радионуклиды, особенно короткоживущие, содержатся в составе немеченой молекулы. Но их там немного. Ещё одно достоинство: могут применяться в таких концентрациях, когда они не оказывают существенного физиологического действия и токсичного эффекта.

Излучение взаимодействует с веществом. По этому взаимодействию мы можем его потом регистрировать. Если между излучателем и детектором находится препятствие (излучение исходит из организма), то взаимодействие также будет происходить. И поток частиц, доходящих до детектора, будет уменьшаться. Наоборот, если применяем нуклиды в терапии, то важно понимать глубину распространения излучения (как сильно оно ионизирует вещество), чтобы правильно рассчитать его воздействие на органы и ткани, чтобы доза воздействия была адекватной и имела лечебный эффект (погибали клетки, которые нужно уничтожить, и мало страдали клетки организма). Побочное воздействие должно быть минимальным.

Радионуклидная диагностика. Основные понятия

Ядерная медицина

Область наших интересов: вещества в открытом виде (а не в закрытом источнике), которые можно получить и использовать. Несколько слов будет сказано и про использование внешних источников излучения для диагностики и терапии.

Ядерная медицина – дисциплина, связанная с применением открытых (не инкапсулированных) радиоактивных источников для диагностических и терапевтических целей в медицине.

К области ядерной медицины относят так же фундаментальные и прикладные научные исследования с использованием радионуклидов, когда решаются важные задачи медицины, например, разработка новых лекарственных средств, которые сами по себе не будут радиоактивны, когда будут применяться.

Радиоактивные изотопы – мощный инструмент для изучения свойств эти веществ. В том числе, на первых экспериментах *in vitro*, потом *in vivo* с лабораторными животными, а также на высших животных в том числе на пациентах (в случае использования радионуклидов, не наносящих вред испытываемому объекту).

Методы ядерной медицины основаны на использовании радиофармпрепаратов (соединений, меченных радионуклидами).

Применение радионуклидов для диагностики

Диагностика (в медицине) – это процесс установления диагноза, то есть заключения о сущности болезни и состоянии пациента.

Отклонение от нормы описывается в терминах анатомии (морфологии), физиологии, психологии и гомеостаза.

Радионуклидная диагностика (nuclear imaging) - функциональная(!) диагностика, входящая в группу методов медицинской визуализации (medical imaging). Задача: продемонстрировать, как радионуклид ведёт себя в организме, показать его функциональные возможности.

Основные методы медицинской визуализации:

- Сонография (УЗИ)
- Магнитно-резонансная томография (МРТ)
- Рентгенологические методы
- Компьютерная рентгеновская томография (КТ)
- Планарная (гамма) сцинтиграфия (ПС)
- Однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ)
- Позитронная эмиссионная томография (ПЭТ)
- ОФЭКТ-КТ
- ПЭТ-КТ
- ПЭТ-МРТ

Посмотрим, какие методы диагностики используются, их основные особенности и как это соотносится с применением радионуклидов или ионизирующего излучения.

Ультразвуковое исследование (УЗИ)

Ультразвуковое исследование (УЗИ), сонография – не инвазивное исследование организма человека с помощью ультразвуковых волн (частота 1-18 МГц). Чем выше частота звука, тем точнее локализация тех изменений, которые ультразвук замечает, но

тем меньше проникновение в объект. Поэтому для разных органов используют разные частоты ультразвука. Ультразвук хорошо распространяется в конденсированных веществах: твёрдых телах, жидкостях, и не проходит через газ. Поэтому при проведении УЗИ на датчик и участок тела наносят специальный гель. С помощью ультразвука можно определить различные среды и переходы между ними.

Варианты применения:

- двухмерные серошкальные изображения
- доплерография (при добавлении изменения частоты звука возникает доплеровское смещение) можно выявить скорость кровотока, другие движения
- контрастирование (с использованием контрастирующих агентов)
- трёхмерное УЗИ (из плоских картинок с помощью компьютерного моделирования создаётся объёмное изображение)

Магнитно-резонансная томография (МРТ)

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР) – резонансное поглощение или излучение электромагнитной энергии веществом, содержащим ядра с ненулевым спином во внешнем магнитном поле, обусловленное переориентацией магнитных моментов ядер.

Когда вещество находится под воздействием электромагнитного поля, ядра с ненулевым спином могут ориентироваться вдоль поля и против поля, и эти переходы можно зарегистрировать.

Магнитно-резонансная томография (МРТ) – это метод медицинской визуализации, применяемый для изображения как анатомических, так и физиологических процессов организма в норме и при патологии.

В случае применения ЯМР в медицине нам нужно получить пространственное распределение сигнала. Для этого МРТ-сканеры используют сильные магнитные поля, электромагнитное излучение в радиоволновом диапазоне и поля градиентов для получения изображения внутренних органов.

Исследования проводят на том веществе, которого в организме максимальная концентрация, то есть на протонах. ЯМР на ядрах водорода – самый распространённый способ проведения МРТ на данный момент.

Ядерный магнитный резонанс был открыт в 1946 году. За это Феликс Блох и Эдвард Миллз Парселл в 1952 году получили Нобелевскую премию.

Обычный вариант ЯМР не применим для изучения организма человека. В стандартном ЯМР-спектрометре вещество помещается в специальную пробирку, которая быстро вращается в магнитном поле, и получается спектр.

Если у нас есть протяжённый объект и нам хочется узнать распределение содержания нужного нам элемента, в данном случае водорода, нужно получить объёмную, пространственную картинку. Пол Лотербур и Питер Мэнсфилд смогли это реализовать. Пол Лотербур обнаружил, что введение градиента в магнитное поле позволяет создавать двухмерную картинку. А Питер Мэнсфилд показал, что использование быстрых вариаций градиента позволяет получать картинку за разумное время. За это открытие они получили Нобелевскую премию в 2003 году.

Комплекс оборудования для МРТ

Пациент помещается в специальный томограф (Рисунок 1), в котором создаётся высокая напряжённость магнитного поля, на которое накладывается градиент и высокочастотное поле. На выходе получаем изображение нужного органа. МРТ используется для исследования всех органов.

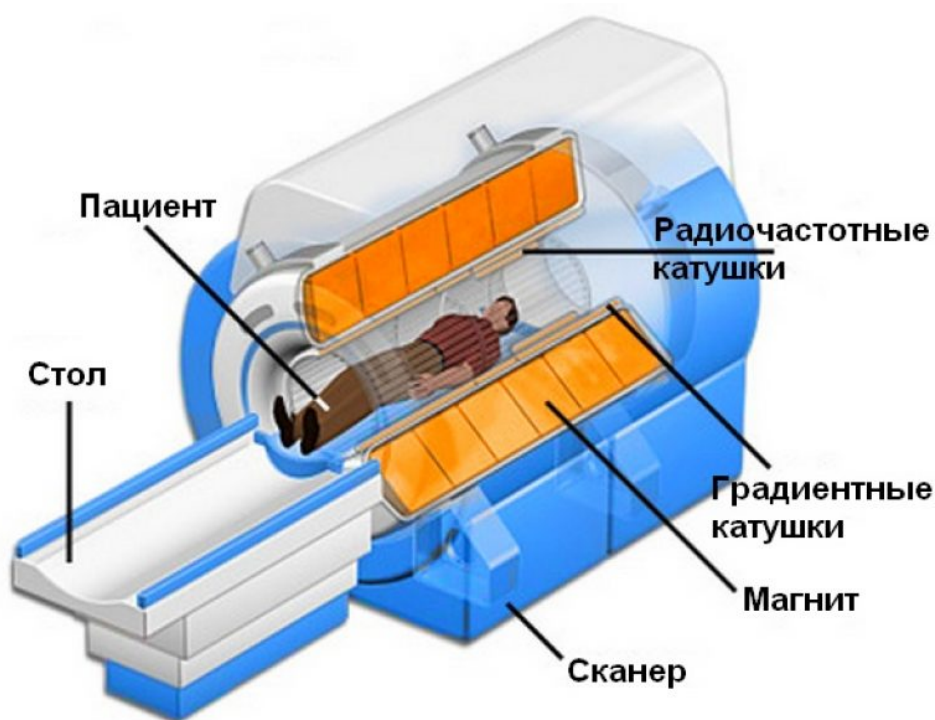


Рисунок 1. Схема строения оборудования для проведения МРТ.

Рентгенологические методы.

Вильгельм Конрад Рентген в 1895 обнаружил, что катодные лучи создают нечто, проникающее через объекты. Он изучил свойства рентгеновского излучения и показал, что оно является отличным методом изучения внутренней структуры объектов с разной плотностью.

Основные варианты применения рентгеновского излучения: флюорография, лечение переломов и стоматология.

Классическое рентгеновское исследование.

Через пациента пропускается излучение с энергией 50-150 кэВ для того, чтобы оно и хорошо контрастировало неоднородности в теле, и хорошо регистрировалось на детекторе (фотопластинка или другие элементы, преобразующие излучение в какой-либо сигнал).

Принцип трансмиссии: измерение ослабления прохождения гамма-квантов при прохождении через ткани различной плотности.

Положение источника фотонов и пациента должно быть строго фиксировано.

Результат: двухмерное изображение.

Радионуклидная диагностика (nuclear imaging)

Основана на *in vivo* изучении распределения соединений, меченных радиоактивными изотопами (радиофармпрепаратов) с помощью внешней системы детекторов.

После введения в организм пациента радионуклидов определяем, в каких органах и тканях они накапливаются. Наблюдаем поведение вещества в организме, его функциональные свойства, а не морфологические изменения в организме. Это позволяет выявить многие заболевания на ранних стадиях.

Требования к диагностическим радионуклидам:

Радионуклид должен испускать излучение с достаточной понижающей способностью, которое можно регистрировать внешним детектором. Радионуклиды должны сами по себе испускать гамма-излучение или иметь сопутствующее гамма-излучение, связанное с аннигиляцией позитронов в организме. Отсюда вытекают два метода исследования:

1. ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная томография (используются гамма-испускающие нуклиды)
2. ПЭТ - позитронная эмиссионная томография (позитроны при аннигиляции дают два фотона)

Чувствительность общепринятых детекторов делает оптимальной область энергии гамма-излучения от 100 до 300 кэВ. Если энергия излучения будет ниже, чем 100 кэВ, то оно достаточно эффективно будет поглощаться тканями, и в меньшей степени будет выходить из организма. А если энергия будет выше, чем 300 кэВ, то будет снижаться эффективность детектора. Если нужно при помощи коллиматоров определять направление, откуда прилетели гамма-кванты, то будет снижаться разрешающая способность этого подхода.

ПЭТ регистрируют гамма-кванты с фиксированной энергией 511 кэВ.

Примеры радионуклидов, являющихся лидерами в использовании в ядерной медицине

Радионуклид	^{99m}Tc	^{18}F
$T_{1/2}$	6 ч	1,8 ч
Тип распада	ИП	Бета+
Энергия гамма-квантов	140 кэВ (удобно для регистрации)	511 кэВ
Получение	Изотопный генератор	циклотрон
Образуется из	^{99}Mo не сразу распадается на ^{99}Tc , а часть образует метастабильное состояние	^{18}O (облучение его протонами)

Планарная гамма-сцинтиграфия (ПС)

Сцинтиграфия – метод радионуклидного исследования внутренних органов, основанный на визуализации с помощью сцинтилляционной гамма-камеры распределения, введённого в организм радиофармпрепарата (РФП).

В состав РФП входят гамма-излучающие радионуклиды: ^{99m}Tc , ^{123}I , ^{111}In и др.

Метод открыт в 1958 году Ангером, который в качестве детектора использовал сцинтилляционный кристалл Na(Tl)I размером 40*40 см. Вылетающие с этого кристалла вторичные фотоны видимой области, которые образуются при взаимодействии гамма-излучения с материалом детектора, фиксируются не одним фотоэлектронным умножителем (ФЭУ), а целым набором ФЭУ в гексагональной упаковке. С помощью электронной схемы гамма-камера Ангера позволяет определить, на каком ФЭУ происходит регистрация, то есть место в кристалле, в котором происходит взаимодействие гамма-излучения с веществом. А система коллиматоров позволяет получить пространственную двухмерную картинку. Коллиматоры представляют собой свинцовые пластинки с определённым направлением укладки и с отверстиями (40 тысяч). На детектор попадают только те фотоны, которые проходят через коллиматор, то есть в нужном направлении. Конструкция коллиматора настроена

на эффективное измерение гамма-излучения энергией 140 кэВ (комптоновские, то есть рассеянные, фотоны не учитываются), что позволяет определить направление, из которого прилетают эти фотоны.

Применение метода: диагностика заболеваний почек и мочевыводящих путей с помощью радиофармпрепарата на основе йодгипурата натрия, меченного ^{123}I . Накопление йода и его выведение через почки позволяет определить, в каком они состоянии. Недостаток: получаем только плоскую картинку. Этого достаточно для почек, когда интересует орган в целом. А если интересует распределение нуклида внутри органа (лёгкое, головной мозг и др.), то нужна объёмная картинка и ПС не подходит.

Томография

Томография – способ получения послойного изображения внутренней структуры объекта.

Томография – метод неразрушающего послойного исследования внутренней структуры объекта путём его просвечивания в различных пересекающихся направлениях. В основе принципа действия томографа лежит компьютерная реконструкция трёхмерного изображения, полученного из набора двумерных проекций.

Варианты томографии:

- Рентгеновская компьютерная томография (КТ, РКТ) – облучать пациента с разных сторон, с обратной стороны детектор фиксирует выходящие фотоны
- Однофотонная эмиссионная томография (ОФЭКТ) - ввести в организм пациента радионуклид $^{99\text{m}}\text{Tc}$ в какой-либо химической форме
- Двухфотонная эмиссионная или позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) - ввести в организм пациента бета+ испускающие нуклиды

Математический аппарат метода был теоретически обоснован А. Кормаком, который разработал способ, как из двумерных изображений восстановить трёхмерное. А независимо от него Г. Хаунсфилд реализовал это на практике. За развитие метода компьютерной томографии учёные получили Нобелевскую премию по физиологии и медицине в 1979 году.

Методы томографии:

- Рентгеновская компьютерная томография (КТ)
- Магнитно-резонансная томография (МРТ)
- Введение в организм пациента радионуклида в какой-то химической форме и получение изображения испускаемого из организма излучения

Компьютерная рентгеновская томография:

1. Многократное сканирование рентгеновским пучком (вращательным и поступательным) вокруг неподвижного объекта
2. Реконструкция изображения по обратным проекциям

Однофотонная эмиссионная компьютерная томография

Испускаемое из пациента гамма-излучение также фиксируется с помощью кристалла Na(Tl)I с коллиматором, но в отличие от плоской стационарной картинке, за счёт вращения будет получено несколько изображений, которые будут интегрированы в суммарное трёхмерное изображение.

Коллиматоры могут быть разной формы: как плоские, так и с углом наклона. Это позволяет концентрировать внимание на более глубоких или поверхностных участках тела.

За счёт большого числа снимков пациент получает большую дозу излучения. Поэтому применение такого подхода должно быть обосновано

Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ)

^{11}C – второй по значимости использования в ПЭТ нуклид.

Схема регистрации (Рисунок 2):

1. Радиоактивный распад с испусканием позитрона (максимальная энергия 1 мэВ)
2. Пробег позитрона с потерей кинетической энергии («упругие» столкновения, позитрон ионизирует окружающие молекулы)
3. Взаимодействие с электронами вещества (кратковременное образование псевдоатома позитрония)
4. Аннигиляция (так как энергия позитрония низка, то по закону сохранения импульса (а каждый фотон несёт свой импульс) два фотона с энергией 511 кэВ разлетаются в противоположных направлениях под углом 180°).

В отличие от однофотонной томографии, в ПЭТ можно сделать схему совпадений и регистрировать только те фотоны, которые попадают в детекторы, находящиеся на противоположных сторонах. Таким образом, можно обнаружить линию и точку, откуда вылетели эти фотоны. Локализация места испускания более высокая, но ограничена пробегом бета-частиц. Нужно использовать те нуклиды, у которых энергия позитронов будет поменьше. Это вдвойне удобно: избыточная доза на пациенте меньше и точнее локализация испускания гамма-квантов и места распада. ^{18}F лучше, чем ^{11}C , так как обладает более низкой энергией.

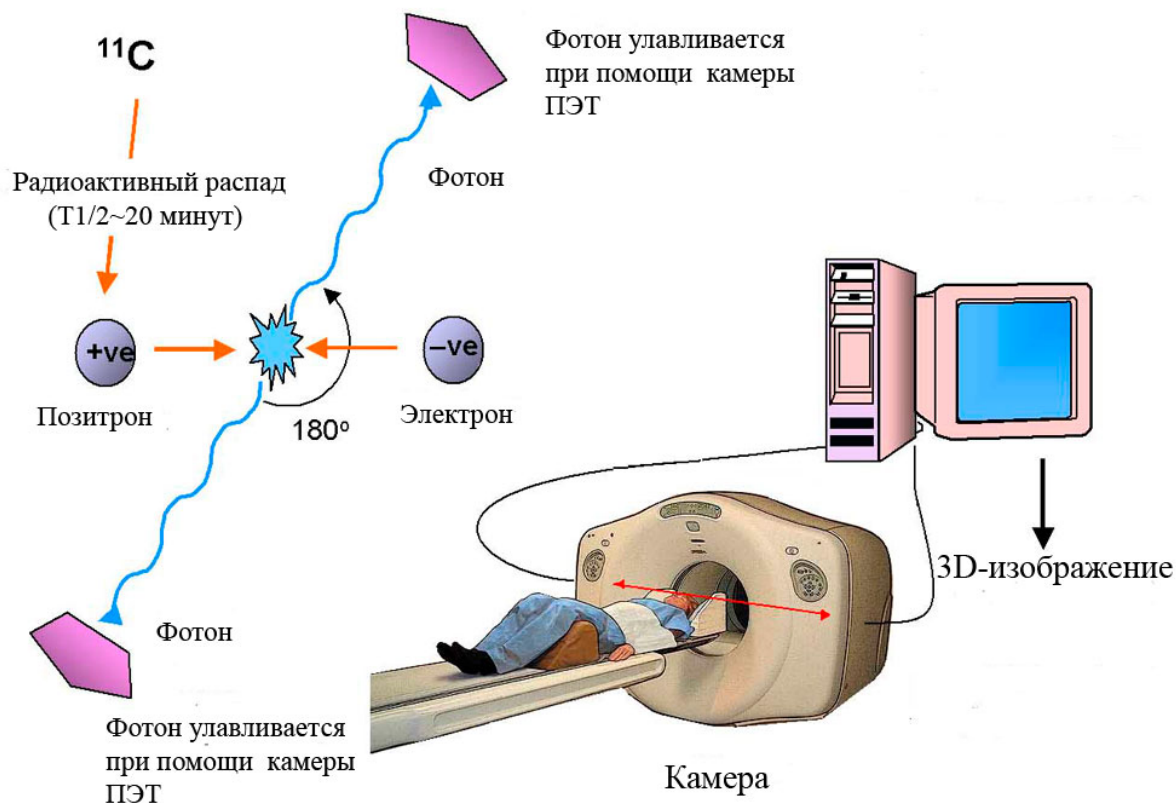


Рисунок 2. Схема регистрации фотонов при проведении позитронной эмиссионной томографии.

Пространственное разрешение в ПЭТ

Пространственное разрешение характеризует способность системы различать отдельные близко расположенные объекты.

Разрешение в ПЭТ зависит от пробега позитронов в ткани, характеристик ткани (плотность) и кристалла (тип и размер, плотность упаковки детекторов, время высвечивания) и от эффективности регистрации данного излучения детекторами.

ПЭТ широко применяется в медицине. ПЭТ радиофармпрепараты: биологически активные молекулы, меченные короткоживущими изотопами с позитронным типом распада.

Распределение радиотрейсера в органах и тканях детектируется с помощью ПЭТ сканнера в виде 3D изображения.

Благодаря уникальным характеристикам радионуклидов ПЭТ даёт возможность визуализации быстрых биохимических процессов *in vivo*.

Преимущества функциональной диагностики ПЭТ с [^{11}C] метионином над МРТ:

МРТ позволяет рассматривать анатомию, а ПЭТ позволяет следить за скоростью накопления и концентрацией вещества. На слайде, представленном Т. Скворцовой из ИМЧ РАН, изображены снимки МРТ мозга без признаков прогрессии опухоли и снимки ПЭТ, диагностирующие рост опухоли в глубокие структуры мозга. Таким образом, ПЭТ позволяет более точно диагностировать заболевания.

Одно из современных применений ПЭТ: использование для доклинических испытаний при разработке новых лекарственных средств на лабораторных животных. Животное получает небольшую дозу облучения, поэтому исследование можно проводить на одном и том же объекте несколько раз, наблюдая картину развития болезни и лечения.

Лекция 2. Получение радионуклидов для ПЭТ-диагностики

Позитронная эмиссионная томография – современный и очень эффективный метод диагностики, который активно развивается во всём мире. Это связано с тем, что ПЭТ позволяет выявить многие заболевания на ранних стадиях.

В этом методе используют короткоживущие радионуклиды, которые при распаде испускают позитроны. Период их полураспада должен составлять минуты или часы, чтобы по время обследования подавался хороший сигнал на детектор сканера, и дозовая нагрузка на пациента была маленькая.

Основные этапы получения РФП (радиофармпрепаратов) для ПЭТ

1. Получение радионуклида (циклотрон)
2. Синтез РФП в горячей камере
3. Очистка методом ТФЭ или ВЭЖХ
4. Контроль качества РФП
5. Получение стерильной инъекционной формы
6. Дозирование или транспортировка (для некоторых возможна)

Короткоживущие радионуклиды невозможно транспортировать на дальние расстояния, поэтому желательно, чтобы лечебный центр имел в своём составе три блока: циклострон, горячая камера и специальное оборудование для очистки и контроля качества РФП.

Меченые соединения

Меченые соединения – химические соединения, в которых атомы одного или нескольких элементов имеют изотопный состав, отличающийся от природного.

Метка может быть и не радиоактивной. Например, тяжёлая вода – это вода, в которой атомы протия замещены на атомы дейтерия $^2\text{H}_2\text{O}$ (D_2O). Для определения содержания не радиоактивной метки нужно использовать специальные методы, например, масс-спектрометрию.

Номенклатура меченых соединений

Количество, положение и распределение метки в молекуле может отличаться.

Два типа изотопно-модифицированных соединений:

1. Изотопно-замещённые (isotopically substituted)
Все молекулы соединения содержат в указанных положениях определённый нуклид. Во всех остальных положениях изотопный состав не отличается от природного.

$^{14}\text{CH}_4$	$\text{CH}_3\text{-}^{14}\text{COOH}$	$^{14}\text{CH}_3\text{-COOH}$	$\text{CH}_2\text{-}^2\text{H-CH}_2\text{-COOH}$
(^{14}C) метан	(1- ^{14}C) уксусная кислота	(2- ^{14}C) уксусная кислота	(3- $^2\text{H}_1$) пропионовая кислота

Указываем положение атома, в котором происходит замещение. Если в этом положении может быть не один атом, а больше, то указываем число атомов, которые замещаются.

Характерный признак таких соединений при написании: в их названии используются *круглые* скобки.

2. Изотопно-меченные (isotopically labeled)

Производные изотопно-замещённых, смесь изотопно-немодифицированного соединения с одним или более его изотопно-замещёнными аналогами. При написании названия тот изотоп, который является носителем метки, указывается в *квадратных* скобках.

Первые три типа (выделены жирным) являются базовыми, основными.

- **Специфично-меченные (Specifically labeled)**
- **Селективно-меченные (Selectively labeled)**
- **Неселективно-меченные (Nonselectively labeled)**
- Равномерно-меченные (Uniformly labeled)
- Обще-меченные (Generally labeled)
- Изотопно-дефицитные (Isotopically deficient)

Типы изотопно-меченных соединений

Тип	Написание формулы
Специфично-меченные	$\text{CH}_3\text{C}[^2\text{H}_3]$ [1- $^2\text{H}_3$] этан
Селективно-меченные	[1- ^2H] CH_3CH_3 [1- ^2H] этан
Неселективно-меченные	[^2H] CH_3CH_3 [^2H] этан
Равномерно-меченные	[U- ^2H] CH_3CH_3 [U- ^2H] этан
Обще-меченные	[G- ^2H] CH_3CH_3 [G- ^2H] этан
Изотопно-дефицитные	[def- ^2H] CH_3CH_3 [def- ^2H] этан

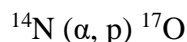
Радиофармацевтический препарат

Радиофармацевтический препарат (РФП) – лекарственный препарат, который содержит в своём составе один или несколько радионуклидов. Так как РФП – это меченные соединения, используемые в медицине, к ним будут предъявляться особые требования по чистоте (стерильность, апиrogenность и др.).

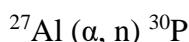
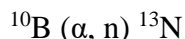
Этапы создания РФП:

1. Поиск и синтез химического соединения, фармакокинетика которого позволяет решить конкретную диагностическую или терапевтическую задачу
2. Выбор радионуклида, обладающего подходящими ядерно-физическими свойствами (удобство детектирования, минимальная дозовая нагрузка для пациента, оптимальная доза облучения органа при терапии). Обращается внимание на тип распада, период полураспада, тип испускаемых частиц или фотонов
3. Разработка методов получения радионуклида и введения его в структуру выбранного химического соединения
4. Разработка состава, технологии производства и методов контроля лекарственной формы РФП
5. Доклинические испытания на животных (проверка функциональной пригодности и безопасности)
6. Клинические исследования РФП

Ядерные реакции – основной способ получения радионуклидов для ядерной медицины. Протекание ядерной реакции было обнаружено в 1919 году Эрнестом Резерфордом.



А в 1932 Ирен и Фредерик Жолио-Кюри впервые использовали ядерную реакцию для получения радионуклидов. Они проводили облучение альфа-частицами полония ряда элементов, в том числе бора и алюминия.



Полученные новые элементы ^{13}N и ^{30}P испускали позитроны и имели короткий период полураспада, поэтому их можно было бы применить для ПЭТ-диагностики. За это открытие Ирен и Фредерик Жолио-Кюри были удостоены Нобелевской премии.

Они были ограничены тем, что у них в распоряжении были только альфа-частицы, получаемые при альфа-распаде. Поэтому они могли наблюдать это явление на лёгких ядрах, ведь для проникновения альфа-частицы в ядро необходимо преодоление кулоновского барьера (ядро заряжено положительно и альфа-частица имеет заряд +2). Чем больше протонов в ядре, тем выше барьер (Рисунок 3).

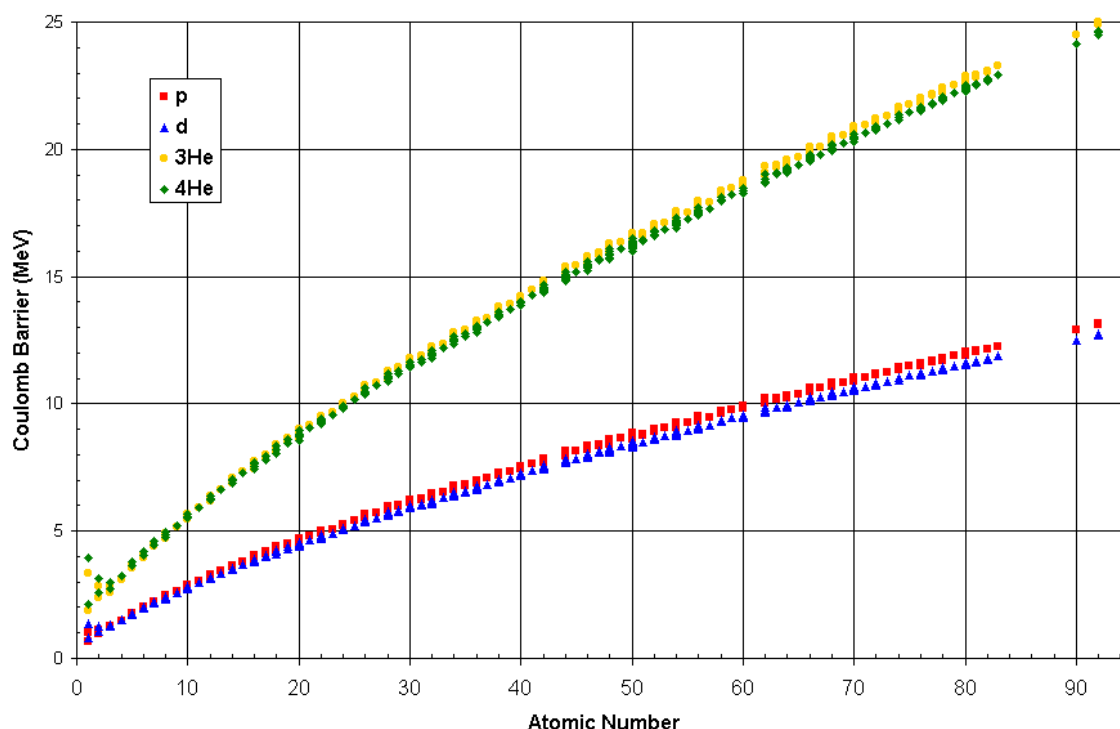


Рисунок 3. Зависимость высоты Кулоновского барьера для преодоления его альфа-частицами от атомного номера элемента.

Используя протоны или дейтроны, можно получать и другие радионуклиды, так как Кулоновский барьер для них ниже. Но протонная радиоактивность очень редкое явление, поэтому для реализации ядерной реакции для получения новых радионуклидов нужно было придумать какой-то способ получения заряженных частиц с большой энергией.

Циклотрон

Эрнест Лоуренс в 1932 году, когда уже был создан линейный ускоритель, предложил идею циклотрона. В циклотроне используется циклическое ускорение движения заряженной частицы по кругу в магнитном поле с ускорением его электрическим полем в области соединения дуантов (полуцилиндров).

Первый циклотрон (Рисунок 4) позволял получать протоны с энергией меньше, чем 1 мэВ, но это уже позволяло изучать ядерные реакции. А в современных циклотронах можно получать ускоренные заряженные частицы с очень большими энергиями, что позволяет проводить самые разные ядерные реакции.

Циклотрон – циклический резонансный ускоритель заряженных частиц

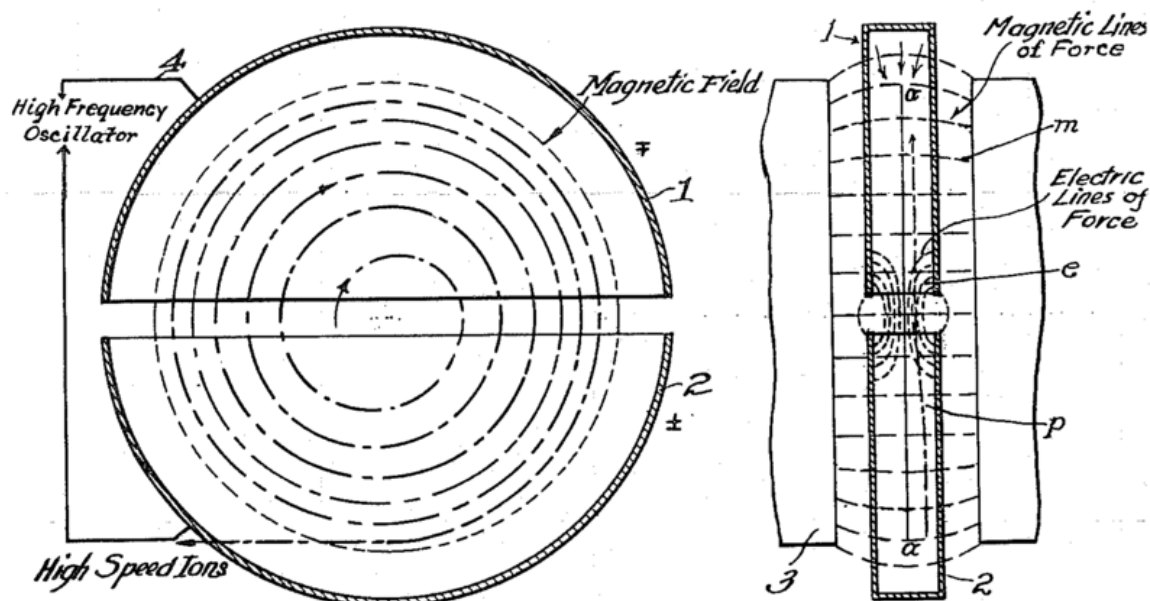


Рисунок 4. Схема циклотрона из патента Э. Лоуренса.

Между полюсами сильного электромагнита помещается вакуумная камера, в которой находятся два электрода в виде полых металлических полуцилиндров, или дуантов (Рисунок 5). К дуантам приложено переменное электрическое поле. Магнитное поле, создаваемое электромагнитом, перпендикулярно плоскости дуантов. Когда частица движется, она получает ускорение и начинает двигаться по окружности большего радиуса.

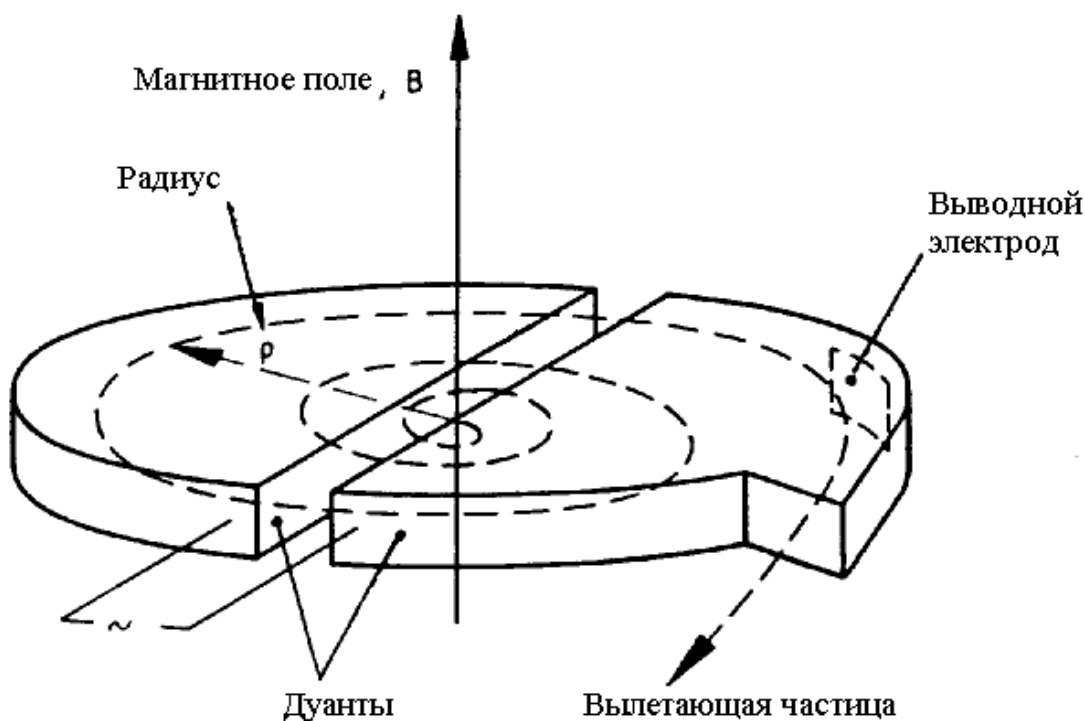


Рисунок 5. Схема устройства циклотрона.

Когда заряженная частица движется в электромагнитном поле, на неё действуют следующие силы:

- Сила Лоренца (Рисунок 6)

$$\vec{F} = q\vec{E} + q\vec{v}\vec{B}$$

На движущийся заряд действует и электрическая и магнитная сила; направления этих сил зависят от напряжённости полей; магнитное поле действует перпендикулярно и заставляет частицу двигаться по окружности: правило правой руки.

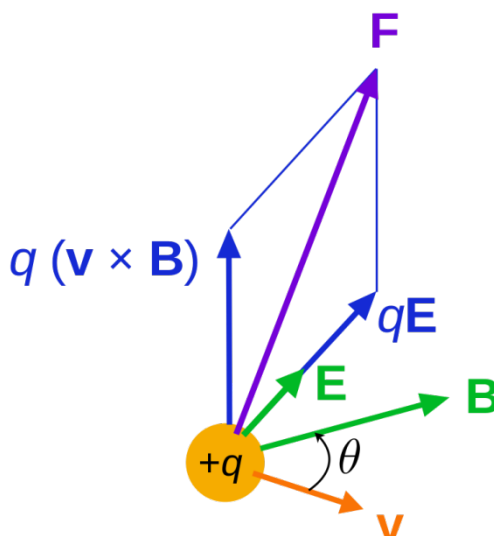


Рисунок 6. Сила Лоренца F , действующая на заряженную частицу с зарядом q при движении со скоростью v . Поля E и B меняются в пространстве и во времени.

- Центробежная сила

$$F = ma_e = \frac{mv^2}{r}$$

r – радиус окружности, по которой движется частица

Таким образом, энергия движущейся частицы (в классическом приближении):

$$E = \frac{1}{2}mv^2 = \frac{q^2B^2R^2}{2m}$$

В циклотронах заряженная частица с зарядом q и массой m ускоряется до скоростей, при которых релятивистский эффект увеличения массы частицы практически не проявляется.

Максимальная энергия ускорения протонов 25-30 МэВ.

Частота, с которой частица вращается по окружности:

$$f = \frac{qB}{2\pi\gamma m_0} = \frac{f_0}{\gamma} = f_0 \sqrt{1 - \beta^2} = f_0 \sqrt{1 - \left(\frac{v}{c}\right)^2}$$

$\sqrt{1 - \left(\frac{v}{c}\right)^2}$ – релятивистская поправка для случаев, когда скорость частиц становится сравнима со скоростью света.

Этапы получения ускоренных протонов:

1. генерирование ионов H^+
2. ускорение
3. экстракция
4. перезарядка

Составные части циклотрона:

- магнитная (обеспечивает движение частиц по заданной траектории и их фокусировку)
- высокочастотная (ускоряет частицы в зазоре между дуантами до требуемой энергии и «вытягивает» частицы из ионного источника)
- ионный источник (постоянно впрыскивает ионы в центральной части циклотрона)
- система вывода пучка (дефлектор или обдирочная углеродная фольга)
- система питания (обеспечивает питание электромагнитных элементов)
- система управления
- система диагностики (совокупность измерительных устройств, позволяющих контролировать параметры пучка)
- система коллимации пучка
- машинный узел (в нём протекает нужная ядерная реакция)
- система радиационной безопасности (блокировка входа в помещение циклотрона и мониторинг радиоактивности во время облучения)

Циклотрон позволяет непрерывно ускорять поток частиц. В отличие от других устройств, которые используют ускорение до больших энергий и возможна подстройка частоты, изменение магнитного поля (в итоге получаются импульсы частиц), в циклотроне идёт непрерывный ток, что позволяет получать максимальный выход радионуклида.

Классификация медицинских циклотронов:

- По энергии ускоряемых частиц: малых или средних энергий
- По типу ускоряемых частиц: протоны (p) или протоны и дейтоны (d)

- По заряду ускоряемых частиц
- По расположению магнита: горизонтальное или вертикальное
- По наличию/отсутствию собственной защиты
- По наличию/отсутствию выведенного пучка

При облучении мишеней пучком заряженных частиц часто реализуются ядерные реакции с выделением нейтронов, поэтому требуется создать специальную защиту от нейтронов, чтобы не возникало избыточного облучения и ядерных реакций за пределами циклотрона. Это необходимо учесть при разработке проекта медицинского центра. Используют «самозащищённые» (self-shielded) циклотроны, в которых в качестве защиты используют специальную внешнюю оболочку, заполненную раствором борной кислоты. Это делает их дороже, но облегчает их установку и монтаж и облегчает требования к помещениям, в которых они располагаются.

Характеристики частиц, ускоряемых на ИВА циклотроне с выведенными пучками (горизонтальный магнит)

Ускоряемые ионы		Энергия, МэВ	Интенсивность (µА)
Протоны	^1H	30-70	375
Дейтроны	^2H	15-35	50
Ядра гелия	$^4\text{He}^{2+}$	68	70

Кинетика накопления продуктов ядерной реакции

Необходимо понимать кинетику накопления продуктов ядерной реакции, чтобы предсказать, как долго облучать мишени пучком протонов, дейтонов или других частиц, чтобы выработать нужную нам радиоактивность.

Дифференциальное уравнение накопления радионуклида:

$$\frac{dN}{dt} = \sigma(E)\Phi n_0 - \lambda N$$

Скорость его накопления зависит от параметров взаимодействия частиц, падающих на мишень, и концентраций ядер в мишени и от того, как быстро эти образующиеся ядра способны распадаться.

Можно использовать приближение для тонкой мишени, когда мы пренебрегаем убылью потока.

Зависимость количества образующихся ядер радионуклид от времени облучения (для тонкой мишени):

$$N = \frac{\Phi_0 \sigma n_0}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t})$$

Зависимость радиоактивности образующегося нуклида от времени облучения (для тонкой мишени):

$$A = \lambda N = \Phi_0 \sigma n_0 (1 - e^{-\lambda t})$$

λ – постоянная распада

Φ_0 – поток частиц, которые попадают на мишень (уменьшается по мере погружения частиц в мишень)

σ – сечение реакции

n_0 – количество ядер мишеней

t – время облучения

Активность (Бк) образовавшегося при облучении в течение времени t радионуклида составит:

$$A = \frac{Yi(1 - e^{-\lambda t})}{\lambda}$$

Y – выход, Бк/мкА·ч

i – ток пучка, мкА

λ – постоянная распада образовавшегося радионуклида, ч⁻¹

Для двух выражений A использованы разные параметры пучка, который мы рассматриваем.

Расчёт наработки радионуклида

Рассмотрим мишень единичной площади, достаточно тонкую, чтобы можно было пренебречь ослаблением пучка и изменением сечения. Для заряженных частиц удобнее перейти от величины потока Φ к току в амперах. Количество образующихся ядер пропорционально времени облучения:

$$N_2 = \frac{6.24 \cdot 10^{18} I t \sigma N_w x}{z}$$

N_2 – количество образовавшихся ядер

N_w – количество ядер мишеней в см³

I – ток, А

t – время облучения

x – толщина мишени, см

σ – сечение реакции, см²

z – заряд бомбардирующих частиц.

Чтобы более детально описать процесс, следует использовать обобщённое уравнение. Сечение реакции зависит от энергии частицы, причём в реакциях с нейтронами эта зависимость кардинально другая.

Необходимо правильно выбирать время облучения и после облучения как можно быстрее вводить радионуклид в химический синтез, то есть использовать в тех целях, для которых он был получен.

Выбор времени облучения на примере изотопа ^{18}F

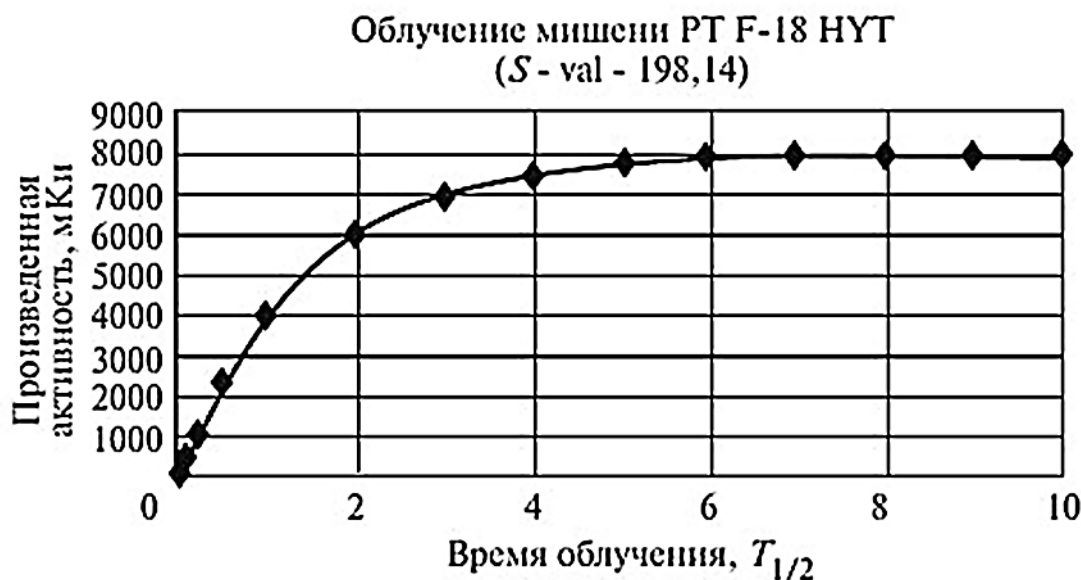


Рисунок 7. Зависимость радиоактивности изотопа ^{18}F (мКи) от времени облучения (ч) при облучении тяжёлой воды (^{18}O) протонами.

Для эффективности работы циклотрона учитывают, что чем больше время облучения, тем меньше выход продукта (выгодно вести в течение одного периода полураспада). Поэтому на практике используют время облучения, когда в мишени накапливается 50% от максимальной активности. Для ^{18}F это не более 2 часов. Слишком короткоживущие нуклиды облучают дольше и сразу выводят в линию сбора.

Сечение реакции

Сечение реакции – это вероятность того, что реакция произойдёт, если частицы столкнулись (протон попал в ядро).

Было упомянуто, что протон с низкой энергией не может преодолеть Кулоновский барьер. Ядерные реакции имеют барьерную величину – минимальную энергию протона (и если у протона энергия ниже, то реакция не происходит).

Сечение реакции $^{14}\text{N} (d, n) ^{15}\text{O}$ увеличивается до энергии примерно 5 МэВ, а затем снижается. Это связано с тем, что при повышении энергии дейтрона в мишени могут

происходить и другие процессы, требующие большей энергии для протекания реакции. И они начинают конкурировать между собой. Поэтому наиболее эффективно идёт реакция через основное ядро: $d + {}^{14}\text{N} \rightarrow {}^{16}\text{O}^* \xrightarrow{n} {}^{15}\text{O}$ (с вылетом нейтрона и с максимумом этой вероятности 5 МэВ). При изменении энергии дейтрона возможны следующие варианты:

- ${}^{16}\text{O}^* \xrightarrow{\alpha} {}^{12}\text{C}$
- ${}^{16}\text{O}^* \xrightarrow{t} {}^{13}\text{N}$ (с испусканием ядра трития)
- ${}^{16}\text{O}^* \xrightarrow{n+p} {}^{14}\text{N}$
- ${}^{16}\text{O}^* \xrightarrow{\gamma} {}^{16}\text{O}$ (снятие возбуждения)

Поэтому при выборе реакции нужно понимать, как зависит её вероятность (сечение) от энергии.

Ядерно-физические характеристики основных ПЭТ радионуклидов

Нуклид	$T_{1/2}$, мин	Тип распада	$E_{\max}(\beta^+)$, МэВ	$R_{\max}(\beta^+)$, пробег в биоткани, мм	A_{mol} , ТБк/нмоль $n \cdot 10^{21}$ Бк/моль
${}^{11}\text{C}$	20,4	β^+ (99,8) EC (0,2)	0,96	4,1	0,34
${}^{13}\text{N}$	10,0	β^+ (100)	1,19	5,4	0,70
${}^{15}\text{O}$	2,0	β^+ (99,9) EC (0,1)	1,74	8,2	3,33
${}^{18}\text{F}$	109,7	β^+ (97) EC (3)	0,63	2,4	0,063

В циклотроне GE PETtrace 4, который находится в Институте Мозга человека, установлена система мишеней, то есть несколько разных мишеней для проведения синтеза различных радионуклидов без замены мишени.

В настоящее время около 90% исследований проводятся с помощью этих радионуклидов. У них высокая удельная активность (A_{mol}).

${}^{11}\text{C}$, ${}^{13}\text{N}$, ${}^{15}\text{O}$ – изотопы биогенных элементов. Они относительно короткоживущие.

${}^{18}\text{F}$ – «аналог» биогенного элемента (способен замещать –H и –OH). У него самая низкая энергия β -частиц из представленных радионуклидов (меньше дозовая нагрузка на пациента и более точное определение места распада).

Основные способы получения радионуклидов биогенных элементов для ПЭТ исследований

Нуклид	Получение	Диапазон энергии, МэВ	Выход для толстой мишени, МБк·мкА ⁻¹ ·ч ⁻¹	Мишень	Химическая форма
¹¹ C	¹⁴ N(p, α)	13 – 3	3.820	N ₂ (O ₂)	¹¹ CO ¹¹ CO ₂
¹³ N	¹⁶ O(p, α)	16 – 7	1.655	H ₂ ¹⁶ O	¹³ NO ₂ ¹³ NO ₃
¹⁵ O	¹⁴ N(d, n)	8 – 0	2.368	¹⁴ N ₂ (O ₂)	¹⁵ OO
	¹⁵ N(p, n)	10 – 0	2.220	¹⁵ N ₂ (O ₂)	
¹⁸ F	¹⁸ O(p, n)	16 – 3	3.893	H ₂ ¹⁸ O ¹⁸ O ₂ /(F ₂)	¹⁸ F _{aq} [¹⁸ F]F ₂
	²⁰ Ne(d, α)	14 – 0	1.110	Ne(F ₂)	[¹⁸ F]F ₂

Преимущества ¹⁸F над другими радионуклидами:

- период полураспада 110 минут идеально подходит для ПЭТ исследований
- удобный способ получения больших активностей ¹⁸F-фторида в водной мишени циклотрона (очень высокий выход из реакции с ¹⁸O: порядка 5 Ки, а во время обследования в организм пациента вводится доза 5 мКи)
- возможность проведения сложных синтезов на основе реакций нуклеофильного фторирования с ¹⁸F
- можно обеспечить проведение десятков ПЭТ исследований за счёт одного синтеза в день
- возможна доставка РФП в другие центры.

Характеристики ядерных реакций получения фтора-18

Ядерная реакция	Облучаемое вещество	Химическая форма ¹⁸ F	Сечение σ _{max} , барн	Выход насыщения, мКи/мкА*	Нарабатываемая активность
¹⁸ O(p, n) ¹⁸ F	[¹⁸ O]H ₂ O	[¹⁸ F]фторид (без носителя)	0,70	240	до 25 Ки
²⁰ Ne(d, α) ¹⁸ F	Ne (0,5-1% F ₂)	[¹⁸ F]F ₂ (с носителем)	0,12	45	300 мКи
¹⁸ O(p, n) ¹⁸ F	[¹⁸ O]O ₂ (плюс F ₂)	[¹⁸ F]F ₂ (с носителем)	0,70	160	1,5 Ки

* на практике эффективность получения радионуклидов в циклотронах оценивают значениями, так называемых *выходов при насыщении* («saturation yields»).

Выход при насыщении – это активность радионуклида, образующаяся при облучении мишени током заряженных частиц 1 мкА в течение времени, обеспечивающего установление равновесия между возникающими по ядерным реакциям радионуклидом и его радиоактивным распадом.

Основные факторы, определяющие производительность второй мишени:

- энергия протонов
- дизайн мишени
- объём мишени
- степень обогащения воды по ^{18}O
- ток пучка
- время облучения

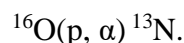
Мишень высокого давления (до 30 бар) позволяет использовать ток пучка 80-100 мкА и получать до 25 Ки фтора-18 за 120 минут облучения.

Во время синтеза радионуклида мишень сильно нагревается, поэтому важно грамотно подобрать дизайн мишени. Энергию от мишени отводят при помощи различных хладагентов.

Камеру для мишени изготавливают из Ag, Ta, Nb. В результате облучения фольги мишени образуются примеси долгоживущих радиоактивных изотопов металлов, присутствие которых может влиять на реакционную способность фтора-18 в реакциях нуклеофильного фторирования. А также полученные нуклиды могут попадать в воду и задерживаться в коммуникациях дальнейшей переработки этой воды.

Радионуклидные примеси при получении фтора-18 по реакции $^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$

Облучаемая вода имеет обогащение по ^{18}O 95-98%. При облучении обычной воды из ^{16}O образуется ^{13}N :



Однако ^{13}N в качестве радионуклидной примеси в конечном РФП обычно не наблюдается, так как:

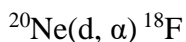
- ^{13}N не участвует в химических реакциях, характерных для ^{18}F
- время синтеза РФП (40-60 минут) в несколько раз превышает период полураспада азота-13 (9,8 минут)

Выделение ^{18}F -фторида из облучённой [^{18}O]воды методом ионообменной хроматографии:

1. После облучения воду ($\text{H}_2^{18}\text{O} + ^{18}\text{F}^-$) давлением гелия перепускают на вход в модуль синтеза
2. $\text{H}_2^{18}\text{O} + ^{18}\text{F}^-$ проходит через картридж с анионообменной смолой

3. ^{18}F (99% всей активности) сорбируется на картридже
4. H_2^{18}O собирается в отдельный сосуд
5. ^{18}F элюируют с картриджа растворами различного состава и используют в реакциях нуклеофильного фторирования – ключевой стадии синтеза многих РФП.

Получение $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$

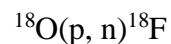


$$\sigma = 115 \text{ мбарн}$$

Облучение смеси Ne и F пучком
дейтронов

При облучении неона (содержание ^{20}Ne 90,5%) дейтронами 150 мин (ток 40 мкА) получают до 9 ГБк (330мКи)

Производительность газовой фторной
мишени ниже



$$\sigma = 700 \text{ мбарн}$$

Изотоп получают в газовой мишени кислорода, обогащённого по ^{18}O ; для выделения ^{18}F из мишени необходимо добавление носителя (0,5-1% F_2)

Низкая удельная активность

Реакция фторирования (теоретический выход 50%):
 $-\text{CHX}- + \text{F}_2 \rightarrow -\text{CHX}- + \text{XF}$

Лекция 3. Синтез РФП на основе ^{18}F

Последняя рекомендованная величина периода полураспада ^{18}F : 109,734 минут. $T_{1/2} (^{18}\text{F}) = 110$ минут – достаточная точность для решения большинства радиохимических задач.

Преимущества РФП на основе ^{18}F :

- Возможность проводить сложные синтезы, начиная с $20\text{Ки } ^{18}\text{F}$
- Высокая удельная активность
- Доставка РФП в клиники, не имеющие циклотрона
- Высокое разрешение ПЭТ изображения

Как влияет введение фтора-18 (не биогенного элемента) в состав молекулы на её биологическую активность?

Сравнение размеров атомов биогенных элементов и фтора

Элемент	Радиус Ван-дер-Ваальса, пм	Ковалентный радиус, пм
H	110	31
C	170	76 sp^3 ; 73 sp^2 ; 69 sp^1
N	155	71
O	142	66
F	135	57

У фтора сходные размеры атома с размерами атомов биогенных элементов. Поэтому свойства молекулы, в которую входит фтор, не будут сильно отличаться от свойств исходной молекулы. То есть диффузия, перемещение, связывание с клеточными мембранами будут проходить так же, как и с не фторированной молекулой. А химические и биохимические реакции, которые будут протекать в организме, будут сильно отличаться.

Замена водорода или гидроксила на ^{18}F приводит к минимальным структурным изменениям исходной молекулы.

Высокая реакционная способность фтора-18 позволяет получать широкий спектр радиотрейсеров, принадлежащих к разным классам соединений.

Получение «истинных» аналогов возможно при введении фтора-18 в структуру фторсодержащих лекарственных средств ($[^{18}\text{F}]$ флюмазенил и др).

Метаболизм меченых фтором-18 молекул блокируется на ранних стадиях.

Методы получения фтора-18

Ядерная реакция	Облучаемый материал	Химическая форма	Носитель
$^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$	H_2^{18}O	^{18}F -фторид	Нет
$^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$	$^{18}\text{O}_2 + \text{F}_2$ (0,5-1%)	$^{18}\text{F}_2$	Да
$^{20}\text{Ne}(\text{d}, \alpha)^{18}\text{F}$	$^{20}\text{Ne} + \text{F}_2$ (0,5-1%)	$^{18}\text{F}_2$	Да

Наиболее широко применяется метод получения ^{18}F в водной мишени (H_2^{18}O) циклотрона.

Разные формы фтора, полученные в результате этих реакций, могут вступать в разные химические реакции. Фтор, полученный в виде аниона, $(^{18}\text{F})\text{F}^-$ далее используется в реакциях нуклеофильного замещения. А элементарный фтор $^{18}\text{F}_2$ будет вступать в реакции по электрофильному механизму.

Удельная мольная активность (Specific radioactivity - SRA)

В случае изучения связывания веществ с рецепторами, которых в организме небольшое количество (например, рецепторы в головном мозге), очень большую роль играет удельная мольная активность полученных РФП. Если она недостаточно высока, то количество связанных атомов будет мало, в отличие от случая, когда в препарате присутствуют почти одни меченые атомы. Чем меньше доля радиоактивных атомов в препарате, тем меньше доля связанных с рецепторами радиоактивных атомов.

Высокая удельная активность необходима для рецепторных исследований и при использовании потенциально токсичных соединений.

Методы введения фтора-18 в молекулы:

- Нуклеофильный (фторирование с алкильными или арильными молекулами)
 $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ (без носителя) $\xrightarrow{S_{NAr}}$ или $\xrightarrow{S_{N2}}$
 - прямое введение метки
 - через синтоны (введение фтора в молекулу, которая уже затем вступает в реакцию): $^{18}\text{F}(\text{Ar})\text{X}$ или $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)\text{X}$
- Электрофильный
 $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ (с носителем) $\xrightarrow{S_{EAr}}$
 - прямое введение метки $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ (редко)
 - через синтоны: $[^{18}\text{F}]\text{AcOF}$ (метят молекулы более избирательно)

Типичная конструкция мишенного блока для получения фтора-18:

Поток протонов с энергией 17 МэВ попадает на мишень, которая изолирована от вакуумной камеры ускорителя специальной титановой фольгой. Поток протонов так высок, что фольга сильно нагревается, поэтому работает гелиевое охлаждение. Сама

мишень окружена водной рубашкой, которая снимает избыточное тепло. Так как мишень жидкая, то пробег протонов в такой среде не очень высок, поэтому мишень не должна быть очень толстой (её размер должен соответствовать потоку нейтронов).
Объём камеры 1-2,5 мл.

После синтеза облучённая вода током гелия выдавливается в блок синтеза. Способы выделения [^{18}F]фторида из облучённой воды для реакций нуклеофильного фторирования:

- Дистилляция с последующим удалением следов воды азеотропной отгонкой с ацетонитрилом (в присутствии основания)
- Сорбция на анионообменной смоле
- Электрохимическое выделение (редко)

Активация фтора-18 для участия в реакциях нуклеофильного замещения

Полученный фтор-анион нужно ввести в реакцию с органическими молекулами, чтобы он заместил какой-то другой агент в молекуле. В водной среде фтор-анион окружён гидратной оболочкой, которая снижает его реакционную способность. Поэтому фтор необходимо активировать.

Для активации фтора существует два приёма: использование криптофиксов или агентов, заменяющих противоион калия на какой-то другой противоион (Rb_2CO_3 , K_2CO_3 , ТВАОН). Важно, чтобы фтор оказался без сольватной оболочки. В качестве растворителя можно использовать ацетонитрил хорошего качества (с минимальным количеством воды).

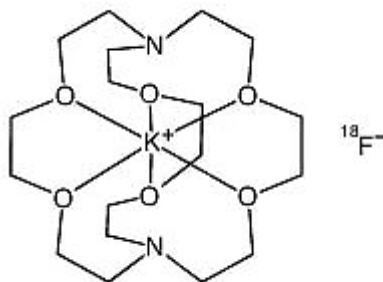


Рисунок 8. Комплекс с криптофиксом K222

Криптофиксы – циклические молекулы, содержащие в своём составе кислород и азот, и хорошо удерживающие в себе катионы. Криптофикс 211 хорошо удерживает литий, криптофикс 221 хорошо удерживает натрий, криптофикс 222 по размеру полости соответствует иону калия.

Комплекс с криптофиксом K222 (Рисунок 8) применяется благодаря хорошей растворимости в органических безводных растворителях, высокой реакционной способности и образованию ионных пар с $^{18}\text{F}^-$.

Трет-бутил-аммоний тоже образует хороший комплекс с фтором и активирует его.

После сорбирования фтора на ионообменном картридже проводят элюирование фтораниона с картриджа с помощью раствора $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ (96:4) в присутствии K222 или K_2CO_3 . Затем удаляют растворители в токе азота или вакууме при нагревании. Полученный комплекс $[\text{K/K222}]^{+18}\text{F}^-$ хорошо растворяется в ацетонитриле и вступает в дальнейшие реакции.

Ведение метки методом прямого нуклеофильного радиофторирования

Стадии процесса:

1. получение ^{18}F -фторид-иона в водной мишени циклотрона
2. сорбция ^{18}F -фторида на смоле QMA и элюирование
3. получение высокореакционного комплекса ^{18}F с криптофиксом или ТБАК (удаление растворителя досуха)
4. фторирование (алифатическое или ароматическое). Причём у молекулы, вступающей в реакцию, все реакционные группы должны быть защищены от вступления в реакцию, а одна группа активирована.
5. гидролиз/снятие защиты
6. очистка (твердофазная экстракция или ВЭЖХ)
7. нейтрализация (pH 5-7)
8. стерильное фильтрование (on-line)

Алифатическое нуклеофильное фторирование

- введение метки путём замещения «уходящей» группы ^{18}F -фторидом в составе активированного комплекса
- «уходящая» группа (LG – leaving group)
- $\text{S}_{\text{N}}2$ -механизм: инверсия Вальдена (обращение конфигурации)
- необходим строгий контроль pH среды, чтобы избежать реакций элиминирования
- реакции в апротонных растворителях в отсутствие воды (ацетонитрил, ДМСО)
- протекают с высоким выходом при температурах 80-100°C

Большинство РФП для рутинных клинических ПЭТ исследований получают именно реакцией алифатического замещения уходящей группы ^{18}F -фторидом. Примером такой реакции служит синтез гипоксического агента для диагностики опухолей $[\text{}^{18}\text{F}]\text{FMISO}$: уходящая группа – тозил (Ts) и выход 40%.

Реакция проводится в две стадии: нуклеофильное фторирование и удаление защитных групп. Можно использовать разные уходящие группы: галогены (в ряду I, Br, Cl, F их уходящая способность снижается), сульфаты, циклические группы. Выбор этих групп зависит от вещества и условий синтеза.

Самым важным РФП, использующим фтор, является фтордезоксиглюкоза. Впервые [^{18}F]ФДГ была получена в 1970-х в США. Синтез (Рисунок 9) проводили реакцией электрофильного радиофторирования с использованием меченного ацетилгипофторида. А радионуклид был получен в результате ядерной реакции $^{20}\text{Ne}(d, \alpha)^{18}\text{F}$, протекающей при облучении газовой мишени.

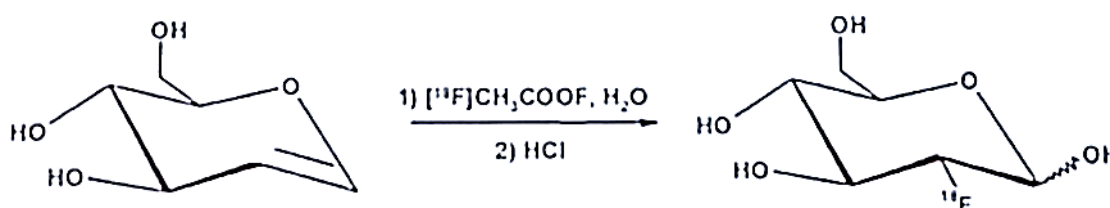


Рисунок 9. Первый синтез 2- ^{18}F -2-дезоксид-глюкозы

Были разработаны более эффективные методы. В качестве стандарта такого синтеза фтордезоксиглюкозы является реакция с производным глюкозы, у которого все OH-группы защищены ацильными группами, а трифлат (уходящая группа) – активирована (Рисунок 10).

- прямое введение метки в молекулу алифатического субстрата (трифлата маннозы) с высоким и стабильным выходом на стадии радиофторирования (до 90%)
- щелочной гидролиз (0,3 М NaOH, 40 °C) on-line на одноразовом картридже C18 SepPak
- Очистка на картриджах без применения ВЭЖХ (основная примесь: фтор-анион, не вступивший в реакцию, от которого необходимо избавиться)
- Высокая степень автоматизации в современных модулях

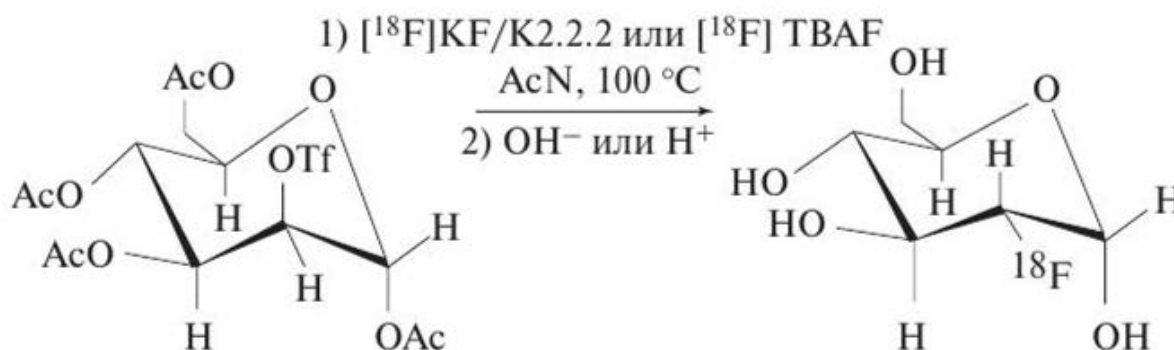


Рисунок 10. Стереоспецифический нуклеофильный синтез 2- ^{18}F -2-дезоксид-глюкозы

Основные этапы синтеза [^{18}F]ФДГ:

1. получение ^{18}F -фторид-иона в водной мишени циклотрона
2. сорбция ^{18}F -фторида на смоле QMA и элюирование
3. получение высокореакционного комплекса ^{18}F с криптофиксом или ТБАК (удаление растворителя досуха)
4. фторирование (алифатическое)
5. щелочной гидролиз/снятие защиты на картридже C18
6. очистка (твердофазная экстракция)
7. смыв буфером (цитратный буфер)
8. стерильное фильтрование (on-line)

Производство [^{18}F]ФДГ в автоматизированных модулях кассетного типа



Рисунок 11. Кассетная радиохимическая система синтеза FASTLAB GE Healthcare (цена одноразовой кассеты 250 евро)

- Простой метод синтеза
- Высокий и стабильный выход радиофторирования в ацетонитриле (до 90%)
- Возможность проведения гидролиза в мягких условиях на одноразовом картридже
- Очистка на картриджах без применения ВЭЖХ

Анализ радиохимической чистоты [^{18}F]ФДГ методом радиоТСХ

Важный этап синтеза: убедиться, что препарат имеет нужное нам качество, и что в нём отсутствуют другие радиоактивные примеси фтора-18 (они накапливаются по-другому и мешают проведению диагностики)

Особенности анализа РФП для ПЭТ:

- малый период полураспада (110 минут) требует использования экспресс методов синтеза и анализа
- анализ препарата нужно проводить до введения пациенту

Метод радиоТСХ (тонкослойной хроматографии) с детектором радиоактивности отвечает этим требованиям. При помощи радиоТСХ сканнера определяется распределение радиоактивности по всей пластинке (вся радиоактивность, которая есть в образце)

Определение примеси [^{18}F]фторида стандартными методами обращённо-фазовой ВЭЖХ затруднительно ввиду сорбции фторида на колонке.

Метод ТСХ рекомендован для анализа [^{18}F]ФДГ Американской и Европейской фармакопеей.

Концепция блокированного метаболизма в ПЭТ исследованиях с ^{18}F -ФДГ

Злокачественные клетки характеризуются более активными процессами гликолиза (потребляют больше глюкозы, чем клетки в норме), что обусловлено повышенным уровнем белков, транспортирующих глюкозу.

ПЭТ с ФДГ - единственный метод, позволяющий количественно определять регионарную скорость потребления глюкозы в тканях. ФДГ точно так же, как и глюкоза (с той же скоростью) поступает в клетки, но накапливается в них, так как ФДГ не вступает в дальнейшие реакции (группа ОН замещена на фтор). Таким образом, по накоплению активности в клетке можно говорить о том, сколько в неё поступает глюкозы.

Недостатки и ограничения ФДГ:

- низкая специфичность к опухолевым клеткам (некоторые опухолевые клетки наоборот потребляют меньше глюкозы)
- высокий уровень физиологического накопления в сером веществе мозга
- сложность диагностики опухолей с низкой скоростью гликолиза
- высокое накопление в очагах воспаления (наиболее частая причина ложно положительных заключений в диагностике опухолей мозга)
- высокое накопление в мочевом пузыре

Сопоставление [^{18}F]ФДГ и L-[^{11}C]метионина: анапластическая астроцитома левого таламуса: ПЭТ с [^{18}F]ФДГ малоинформативна, а использование L-[^{11}C]метионина позволило выявить опухоль, её размер и границы.

Приоритетные РФП на основе фтора-18 (кроме ФДГ) для диагностики опухолей (программа МАГАТЭ 2009-2014 г.)

Класс радиотрейсеров	Функция/применение	РФП	Метод синтеза
Аминокислоты	Транспорт а/к (опухоли мозга)	ФЭТ (FET)	Нуклеофильный прямой
	Транспорт а/к (нейроэндокринные опухоли)	6-ФДОФА (6-FDOPA)	Электрофильный прямой
Нуклеозиды	Метастазы, эффективность терапии	ФЛТ (FLT)	Нуклеофильный прямой
Гипоксические агенты	Гипоксические опухоли	ФАЗА (FAZA)	Нуклеофильный прямой
Производные холина	РПЖ, опухоли мозга	ФМеХол (FMeChol)	Нуклеофильный двухстадийный

Рассмотрим примеры веществ, которые синтезируются с использованием фтора.

1). 3'-дезоксидезокси-3' [^{18}F]фтортимидин (FLT) – производное тимидина (Рисунок 12), у которого в положении 3 вместо окти-группы находится фтор.

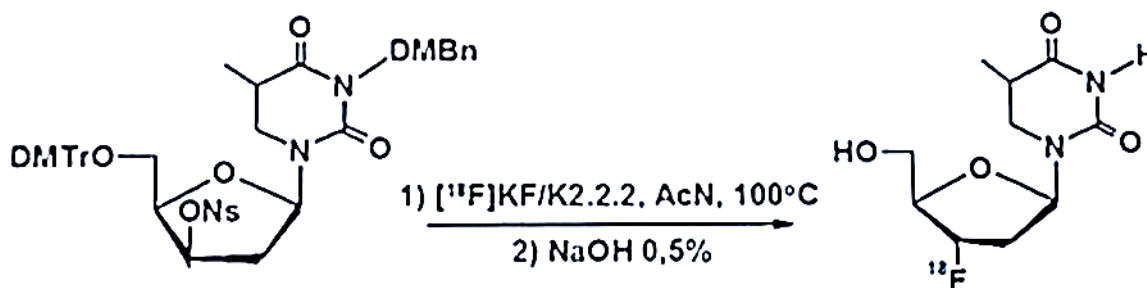


Рисунок 12. Синтез 3'-дезоксидезокси-3' [^{18}F]фтортимидина (FLT)

- фосфорилируется по 5'-ОН-группе тимидин-киназой ТК1
- из-за наличия фтора не инкорпорируется в ДНК
- накапливается в пролиферирующих клетках
- применяется для выявления метастаз, в оценке эффективности лечения

2). ^{18}F -фтороазомицин арабинозид (^{18}F -FAZA) - гипоксический агент, позволяющий выявлять опухоли, которые развиваются в условиях низкого содержания кислорода. Синтез проводят по реакции алифатического нуклеофильного фторирования.

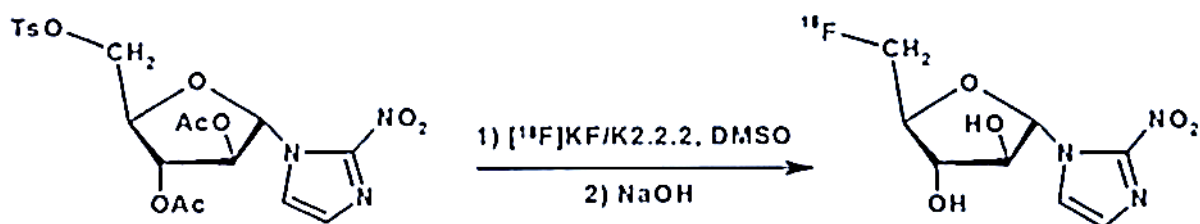


Рисунок 13. Синтез ^{18}F -фтороазомицин арабинозида (^{18}F -FAZA)

- гипоксия характеризуется дефицитом кислорода
- гипоксические клетки опухоли обладают повышенной (3-5 раз) резистентностью к радиотерапии
- ^{18}F -FAZA накапливается в гипоксических клетках
- недостаток: высокий уровень неспецифического связывания

Ароматическое нуклеофильное фторирование

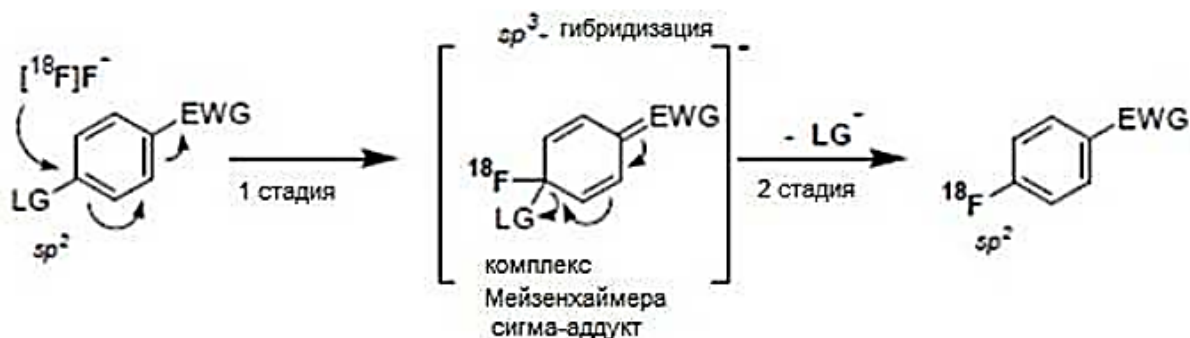


Рисунок 14. Схема реакции нуклеофильного замещения уходящей группы $[^{18}\text{F}]$ фторидом (ароматический субстрат)

- нуклеофильная атака по атому углерода в sp^2 конфигурации (в положении уходящей группы)
- обязательно наличие активирующей (EWG) группы в орто- или пара-положении (без активации реакция будет идти с очень плохим выходом)
- EWG-группы: CHO, CN, COOR, NO₂
- уходящие группы (LG): NO₂, Br, I, Cl, N+Me₃
- реакции протекают в апротонных полярных растворителях
- высокий выход достигается при температуре 160-180°C за 20-30 минут.

Введение метки в [^{18}F]фторгетероарены методом прямого нуклеофильного фторирования

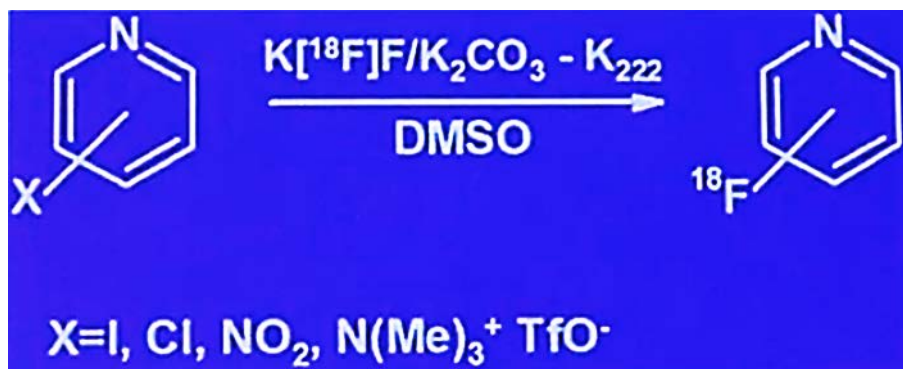
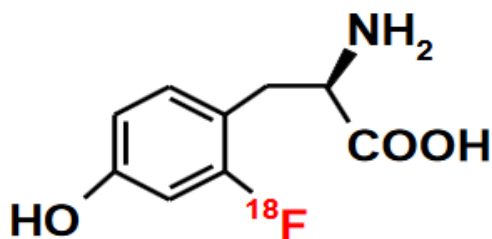


Рисунок 15. Схема реакции прямого введения метки в [^{18}F]фторгетероарены

- более мягкие условия
- высокий выход
- одностадийный синтез

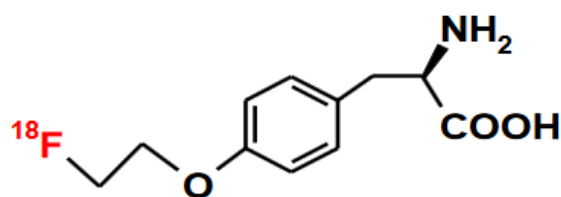
3). Рассмотрим пример синтеза важного для диагностики заболеваний соединения: фторированного тирозина и его производного. Чтобы ввести фтор в тирозин, можно профторировать по кольцу или использовать его производное по OH-группе, которое можно получить при помощи нуклеофильного фторирования. Выбор метода синтеза зависит от положения метки. Прямое введение метки в ароматический фрагмент аминокислоты невозможно.

2- ^{18}F фтор-L-тирозин



Электрофильный синтез

O-(2'- ^{18}F фторэтил)-L-тирозин



Нуклеофильный синтез

Методы получения [^{18}F]фторэтилтирозина (ФЭТ): ^{18}F -фторалкилирование и прямое нуклеофильное фторирование

4). [^{18}F]флюмазенил - радиолиганда для диагностики заболеваний головного мозга, в том числе эпилепсии. Флюмазенил - антагонист бензодиазепиновых рецепторов.

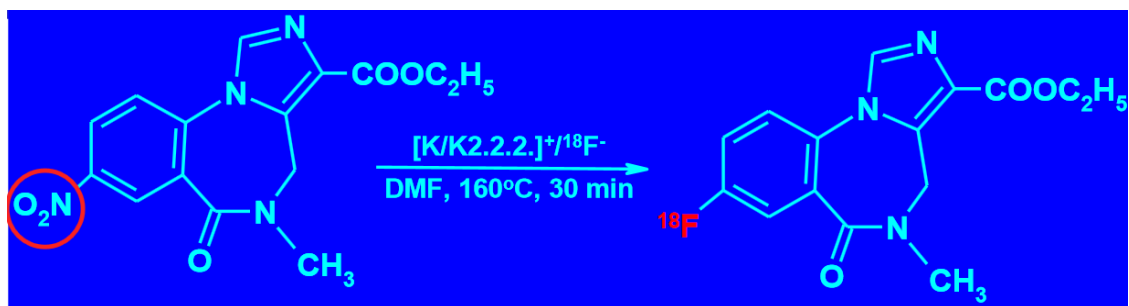


Рисунок 16. Синтез [^{18}F]флюмазенила из производного флюмазенила, у которого фтор замещён на нитро-группу.

Эффективность ^{18}F -фторирования 60%, ДМСО, 30 мин, 180°C. Мета-положение уходящей группы, псевдоароматическая структура.

Примером нуклеофильного синтеза, протекающего в несколько стадий и асимметрично является синтез 2- ^{18}F фтор-L-тирозина с МФ катализом S-НОБИНОм. Синтез проходит асимметрически за счёт того, что молекула катализатора не плоская. Это позволяет получать нужный изомер.

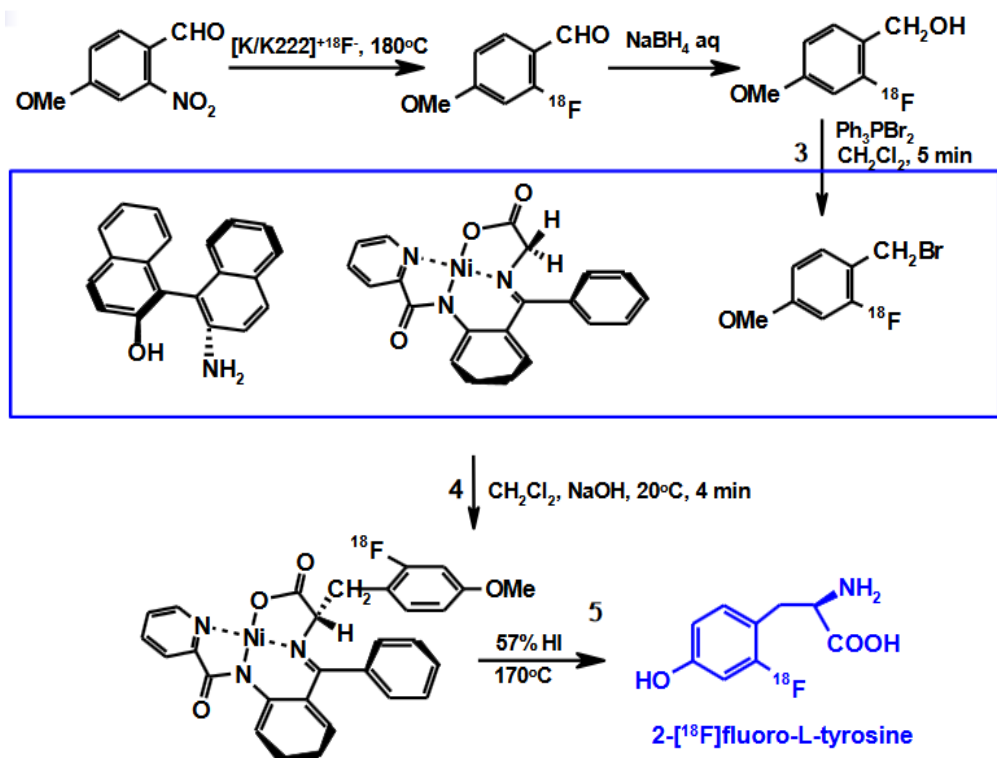


Рисунок 17. Многостадийный нуклеофильный асимметрический синтез 2- ^{18}F фтор-L-тирозина с МФ катализом S-НОБИНОм

Тирозин и окси-тирозин (его производное с OH-группой) являются важными веществами для диагностики заболеваний головного мозга. В 1983 году был получен 6- ^{18}F -фтор-L-ДОФА - первый ПЭТ радиотрейсер для изучения дофаминэргической системы. Было показано, что его накопление в отдельных участках мозга отражает количество дофамина в этих участках.

5). 6- ^{18}F -фтор-L-ДОФА (диоксифенилаланин – предшественник дофамина) так же является радиотрейсером для диагностики нейроэндокринных опухолей и заболеваний щитовидной железы.

Проведение реакций электрофильного замещения требуют получение фтора-18 в форме $^{18}\text{F}\text{F}_2$, для этого используют газовые мишени. Мишень должна быть протяжённой, чтобы максимально использовать все протоны, которые в неё попадают. Проводят прямое электрофильное радиофторирование с использованием фтора-18 в форме $^{18}\text{F}\text{F}_2$ (неселективная метка). $^{18}\text{F}\text{F}_2$ - высокореакционный реагент с низкой селективностью. Могут образовываться побочные продукты, которые нам не нужны.

Поэтому для проведения электрофильного фторирования нужно брать производное молекулы, которое будет вступать в реакцию селективно.

Чтобы осуществить стереоселективный электрофильный синтез нужно ввести в состав молекулы группу, которая будет легко замещаться на фтор. В качестве таких групп используют $-\text{M}(\text{CH}_3)_3$, где $\text{M} = \text{Sn}, \text{Ge}, \text{Si}, \text{Hg}$. Такие реакции носят название: реакции демеаллирования. Метка фтор-18 вводится в конкретное положение молекулы.

6). 6- ^{18}F фтор-L-ФДОФА (Рисунок 18) – фторированный аналог диоксифенилаланина.

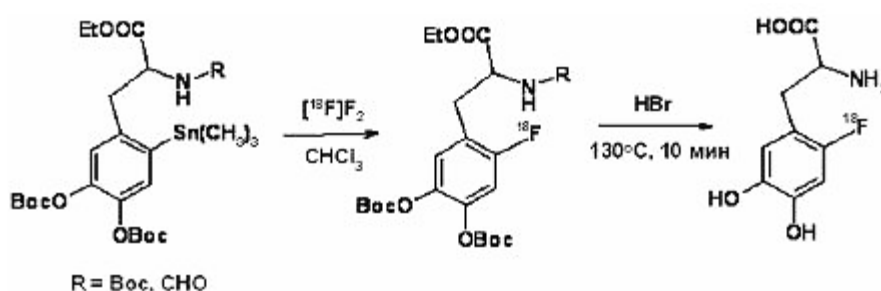


Рисунок 18. Стереоспецифический электрофильный синтез 6- ^{18}F фтор-L-ФДОФА с использованием $^{18}\text{F}\text{F}_2$

- Высокая стереоспецифичность (>99% L-изомера)
- Радиохимический выход: $33 \pm 4\%$

Этапы проведения стереоспецифического синтеза 6-[^{18}F]фтор-L-ФДОФА:

1. Облучения Ne-мишени 150 мин., ток 40 мкА, получают 9.0 ГБк ^{18}F
2. Улавливание в 10мл фреона, содержащего 60 мг F_2 при -20°C
3. Реакция: 30°C , 4 мин, удаление фреона в вакууме при 50°C
4. Снятие защиты: 2.0 мл 47% HBr , 130°C , 10 мин
5. Охлаждение до 70°C , нейтрализация 1.3 мл 25% раствора NH_4OH
6. ВЭЖХ очистка (Nucleosil 100 C-18, 7 микрон, 16×250 мм, элюэнт 2% этанола в 0.05 М NaH_2PO_4 (pH 4-5))
7. Стабилизация Na-соль аскорбиновой кислоты

Недостатки электрофильного синтеза 6-[^{18}F]фтор-L-ДОФА:

- Длительное время облучения, длительное время улавливания фтора-18 в растворе прекратора во фреоне
- Потери радиоактивности на стадии упаривания фреона (фреон можно заменить на дейтерированный хлороформ)
- Длительная процедура "подщелачивания" перед ВЭЖХ очисткой
- Необходимость стабилизации продукта в отношении радиолиза (добавление аскорбиновой кислоты)
- Обязательное определение высокотоксичного олова в продукте
- Большое количество (60 мг на синтез) дорогостоящего прекурсора

Несмотря на большое количество недостатков, перечисленные РФП очень важны и широко применяются в ядерной медицине. 6-[^{18}F]фтор-L-DOPA применяется в качестве РФП для диагностики болезни Паркинсона (заболевание тоже связано с нарушением обмена дофамина в головном мозге).

Лекция 4. Радионуклиды биогенных элементов

Короткоживущие изотопы ^{15}O и ^{13}N

Характеристика радионуклида ^{15}O :

- период полураспада: 2,0 мин (накладывает ограничения на дальнейший синтез веществ и их применение)
- $E_{\beta+}(\text{max}) = 1,74 \text{ МэВ}$
- максимальный пробег позитронов в воде: 8 мм

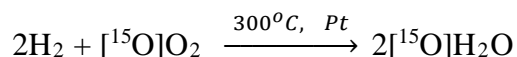
Получение кислорода-15

Ядерная реакция	Тип мишени	Облучаемый материал	Химическая форма стабилизации дочернего радионуклида
$^{14}\text{N}(\text{d},\text{n})^{15}\text{O}$	газовая	$\text{N}_2 + 1\text{-}2\% \text{O}_2$	$[\text{O}^{15}]\text{O}_2$
$^{16}\text{O}(\text{p},\text{pn})^{15}\text{O}$	водная	H_2O	$[\text{O}^{15}]\text{H}_2\text{O}$
$^{15}\text{N}(\text{p},\text{n})^{15}\text{O}$	газовая	$\text{N}_2 + 0,1\% \text{O}_2$	$[\text{O}^{15}]\text{O}_2$

Основной реакцией получения является первая реакция.

По реакции $^{14}\text{N}(\text{d},\text{n})^{15}\text{O}$ кислород-15 получается в виде газа, но чаще ^{15}O необходим в виде воды, чтобы можно было посмотреть перфузию (например, движение крови).

Поэтому осуществляют синтез $[\text{O}^{15}]\text{H}_2\text{O}$ из $[\text{O}^{15}]\text{O}_2$ по реакции:



Облученный газ пропускается через два фильтра, в которых находятся активированный уголь и гидроксид натрия, для удаления возможных примесей других радионуклидов: $[\text{N}^{13}]\text{N}_2\text{O}$ и $[\text{C}^{11}]\text{CO}_2$ соответственно. Уже затем проводят реакцию с водородом в печи, нагретой до 300°C . Образовавшаяся в виде пара вода пропускается через раствор NaCl и стерилизуется через фильтр.

Если требуется, можно перевести кислород в форму перекиси, используя фенол-хиноидные превращения, или перевести кислород в бутанол, используя бор-органику.

Характеристика радионуклида ^{13}N :

- период полураспада: 10 мин
- $E_{\beta+}(\text{max}) = 1,2 \text{ МэВ}$
- максимальный пробег позитронов в воде: 5,4 мм

Получение азота-13

Ядерная реакция	Порог реакции, МэВ	Максимальное сечение, мбарн	Природное содержание исходного изотопа
$^{12}\text{C}(\text{d},\text{n})^{13}\text{N}$	0,3	150	98,89 %
$^{16}\text{O}(\text{p},\alpha)^{13}\text{N}$	5,5	19	99,76 %
$^{14}\text{N}(\text{p},\text{pn})^{13}\text{N}$	8,9	44	99,63 %
$^{13}\text{C}(\text{p},\text{n})^{13}\text{N}$	3,2	211	Обогащённый

Основной реакцией получения является вторая реакция.

При облучении воды протонами в реакции $^{16}\text{O}(\text{p},\alpha)^{13}\text{N}$ основной формой азота будет восстановленная форма $^{13}\text{N}]\text{NH}_4^+$ (первичная форма стабилизации). Но при длительном облучении происходит радиолитическое окисление (ускоренные протоны помимо ядерной реакции проводят радиолитическое окисление среды), и в растворе появляются оксоанионные формы: $^{13}\text{N}]\text{NO}_3^-$ и $^{13}\text{N}]\text{NO}_2^-$. В диагностике чаще используют аммиак в форме аммония.

Существует два способа повышения выхода восстановленной формы $^{13}\text{N}]\text{NH}_4^+$:

1. Химическое восстановление. Получив смесь окисленных и восстановленных форм, пропустить облучённый раствор в присутствии NaOH через сплав Деварда [Cu 50%, Al 45%, Zn 5%]. Недостаток: лишняя стадия, а период полураспада короткий.
2. Прямой ядерно-химический метод. Добавить в воду этанол, водород или метан, способствующие восстановительной среде. Это повышает выход $^{13}\text{N}]\text{NH}_4^+$.

Помимо получения формы аммония $^{13}\text{N}]\text{NH}_4^+$ можно проводить радиохимические синтезы и других соединений. Например, синтез L- ^{13}N] глутамата из α -кетоглутарата. Или синтез цисплатина – мощного средства, которое используют в качестве химиотерапевтического агента.

Выбор способа производства радионуклида в мишени циклотрона

Один и тот же радионуклид можно получить в результате различных ядерных реакций.

Оптимальной реакцией не всегда является та, которая протекает с наибольшим теоретическим выходом (высоким сечением и др).

Важное значение при выборе имеют:

- стоимость и доступность сырья (для обеспечения радионуклидной чистоты может потребоваться обогащение элемента по одному из его стабильных изотопов)
- сопутствующие радионуклиды, образующиеся в мишени

- физические, химические и механические свойства мишени (в частности, в связи с интенсивным тепловыделением в мишени)
- сложность и стоимость радиохимических операций для выделения радионуклида.

РФП на основе радионуклида ^{11}C

Использование изотопа углерода очень выгодно, так как этот элемент содержится во всех органических молекулах. ^{11}C и ^{18}F занимают ведущие позиции по применению в ядерной медицине.

Ядерно-физические свойства ^{11}C

Нуклид	$T_{1/2}$	Тип распада	$E_{\beta^+}(\text{max})$	$R_{\beta^+}(\text{max})$ биоткань	A_{mol} , ТБк/нмоль п·1021 Бк/моль
^{11}C	20,4 мин	β^+ (99,8) ЕС (0,2)	0,96 МэВ	4,1 мм	0,34

^{11}C был впервые синтезирован в 1934 году. Уже в 1939 его применили для изучения фотосинтеза в растениях. А в 1945 году были проведены первые эксперименты на эритроцитах человека.

Ядерно-химический способ получения разных химических форм углерода-11: реакция $^{14}\text{N}(p, \alpha)^{11}\text{C}$. Из-за небольшого периода полураспада важно сразу получить углерод-11 в нужной форме: окисленной или восстановленной. Облучаем азот сразу с добавкой нужных веществ:

$^{11}\text{CO}_2$ - мишень N_2 содержит 1% O_2

$^{11}\text{CH}_4$ - мишень N_2 содержит 5% H_2

Преимущества использования ^{11}C в качестве РФП:

- Возможность получения радиотрейсеров - "истинных" аналогов природных субстратов
- $T_{1/2} = 20$ мин \Rightarrow малая дозовая нагрузка \Rightarrow можно проводить повторные ПЭТ исследования у одного пациента
- Доступный материнский радионуклид ^{14}N и ядерная реакция с высоким сечением позволяет достаточно недорого получать большие радиоактивности ^{11}C в двух химических формах ($^{11}\text{CO}_2$ или $^{11}\text{CH}_4$) в газовой мишени циклотрона
- Простая и надёжная технология наработки ^{11}C , минимальный сервис мишени, замена фольги: один раз в 10-20 лет

- Возможность наработки большого числа РФП с помощью стандартных технологий метилирования и карбонилирования
- Возможность выполнять различные синтезы на одном и том же модуле через короткие промежутки времени

Порог реакции $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$ примерно 4 МэВ (Рисунок 19), а максимум сечения приблизительно 8 МэВ (для толстой мишени).

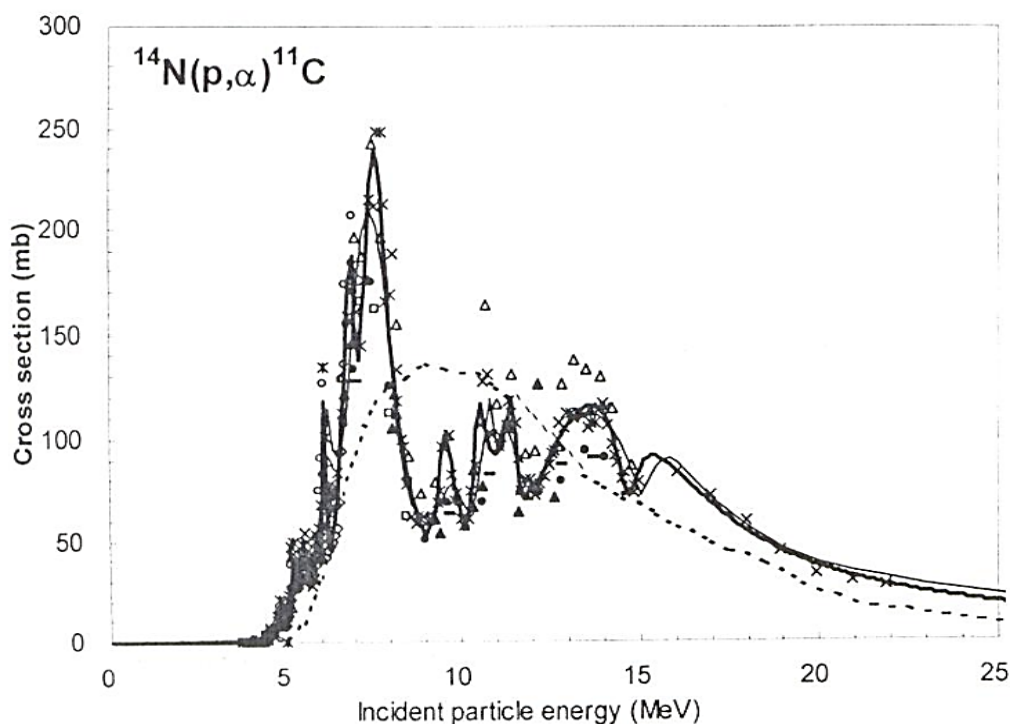


Рисунок 19. Зависимость реакции $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$ от энергии протонов

В газовой мишени для производства углерода-11 пробег протонов большой, поэтому она имеет вид длинной трубы, в которой находится газ под давлением. Фольга на входе в мишень охлаждается гелием. Производительность газовой мишени зависит от конструкции мишени, объёма мишени, состава газа и давления в мишени.

При прохождении пучка через газовую мишень протоны рассеиваются. Чтобы объём мишени использовался оптимально, трубу изготавливают с конусовидным расширением.

От материала, из которого сделаны стенки мишени, зависит радиоактивность образующегося ^{11}C .

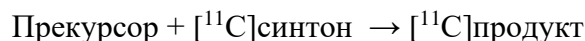
Время синтеза ^{11}C -радиотрэйсеров не должно превышать три периода полураспада. А максимальный выход будет получен за 20 минут.

Изменение радиоактивности ^{11}C на этапах производства РФП:

Получение ^{11}C в мишени циклотрона _____ 1-3 Ки
↓
Радиохимический синтез
↓ $\leq 3 T_{1/2}$
Очистка ВЭЖХ/ТФЭ
↓
Получение инъекционной формы _____ 0,06-0,6 Ки
↓ ≈ 20 мин
Анализ _____ 0,03-0,3 Ки
Инъекция пациенту

Для получения качественного изображения пациенту нужно ввести 5-10 мКи.

Кинетические аспекты реакций с участием углерода-11



Время реакции должно быть как можно меньше. В идеале «практический» радиохимический выход должен достигаться за время, не превышающее 1-2 периода полураспада.

$[^{11}\text{C}]$ синтон – промежуточный меченный продукт

Для увеличения скорости реакции используют:

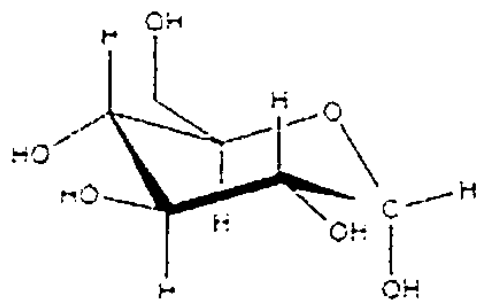
- большой избыток прекурсора по сравнению с $[^{11}\text{C}]$ -синтоном
- высокую концентрацию прекурсора в малом объеме (закон действующих масс)
- реакции в герметично закрытых сосудах, что позволяет применять высокие температуры и давление
- микроволновой нагрев или ультразвуковое перемешивание реагентов
- реакции в режиме online (на картриджах, в петле хроматографа и др.)
- микрореакторные технологии – реакции в узких капиллярах при высоких давлениях

Изотопное и неизотопное введение метки

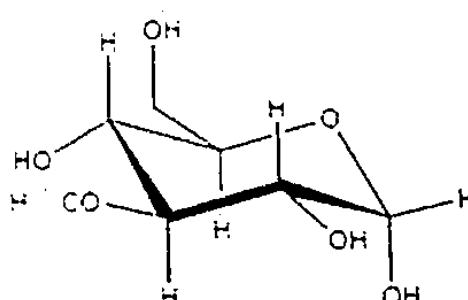
При изотопном введении метки ^{11}C замещает в молекуле стабильный $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$; биологическая активность молекулы при этом не меняется.

При неизотопном введении метки в молекулу субстрата вводится функциональная группа, содержащая ^{11}C ; при этом образуется молекула другого соединения с отличными от исходных химических свойств и биологической активностью.

Число возможных РФП на основе ^{11}C практически не ограничено; оно определяется возможностями радиохимического синтеза: время реакции, устойчивость реагентов к действию радиации и исходные параметры.



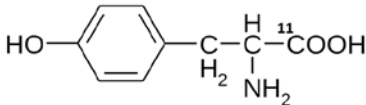
1- ^{11}C -глюкоза
Изотопно меченная глюкоза



[3- ^{11}C]-О-метил глюкоза
Неизотопно меченная глюкоза
Изотопно меченная 3-О-метил глюкоза

Важнейшие РФП на основе углерода-11

РФП	Реакция получения	Изучаемый процесс	Диагностическое применение
L-[^{11}C -метил]метионин 	S-метилирование	Транспорт аминокислот	Опухоли мозга и шейного отдела
[N-метил- ^{11}C]холин 	N-метилирование	Пролиферация клеток	Опухоли мозга, РПЖ
1-[^{11}C]ацетат 	Карбоксилирование	Окислительный метаболизм в миокарде	Инфаркт миокарда, РПЖ, опухоли гинекологического тракта
[^{11}C]пальмитат $\text{C}_{15}\text{H}_{31}^{11}\text{COO}^-$	Карбоксилирование	Энергетический метаболизм миокарда	Жизнеспособность миокарда

$\text{L-[1-}^{11}\text{C]тирозин}$ 	Реакция с $[^{11}\text{C}]\text{HCN}$ и щелочной гидролиз	Транспорт аминокислот, синтез белка	Опухоли мозга, опухоли ЖКТ
Различные рецепторные радиолиганды	S-, N-, O-метилирование		

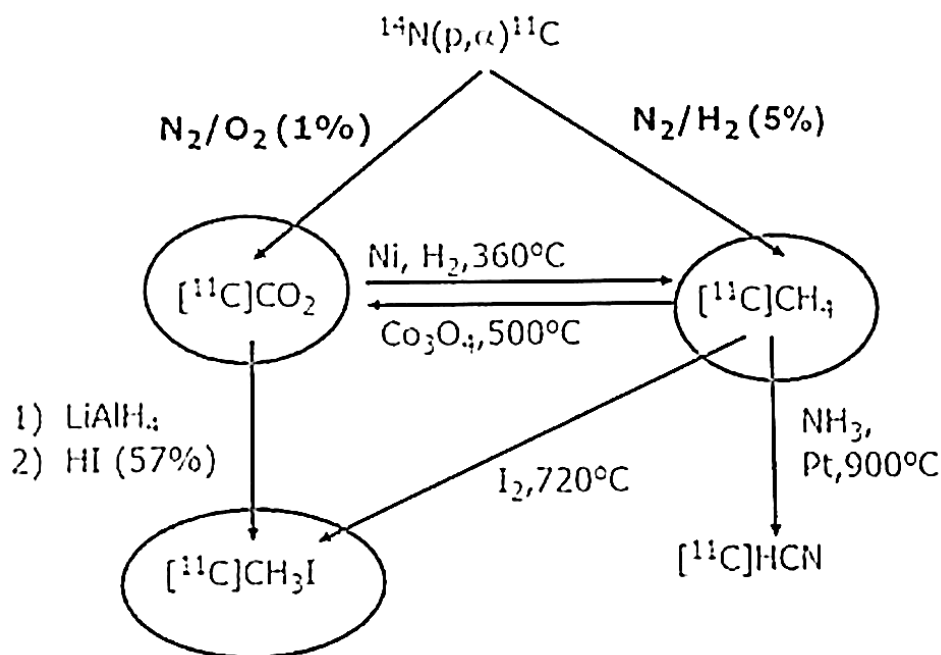


Рисунок 20. Получение углерода-11 в различных химических формах

Существует два пути синтеза нужного нам прекурсора $[^{11}\text{C}]$ метилюдида (Рисунок 21). Данный прекурсор используется для получения L- $[^{11}\text{C}$ -метил]метионина, [N-метил- ^{11}C]холина и других РФП. Далее рассмотрим достоинства и недостатки каждого из путей синтеза.

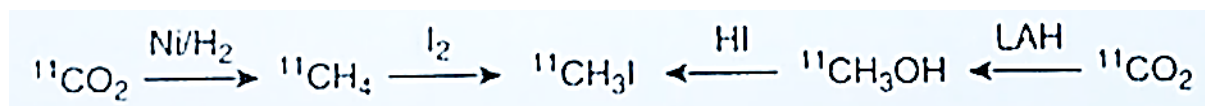


Рисунок 21. Пути синтеза $[^{11}\text{C}]$ метилюдида

Получение ^{11}C -метилюдида из $^{11}\text{CO}_2$ («мокрый» метод)



Метод разработан в 1976 году французским учёным D. Comar и применяется до сих пор. Недостатком метода является использование агрессивных реагентов (HI), разрушающих вентили, соединительные узлы и другие компоненты модуля.

Высокий выход достигается при использовании свежеприготовленного раствора LiAlH_4 , в сухом тетрагидрофуране (ТГФ).

Способы выделения $^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ из газовой мишени:

- Конденсация $^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ в петлеобразной ловушке, которая погружена в жидкий азот ($t = -196^\circ\text{C}$).
- Улавливание $^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ в ловушке, заполненной молекулярными ситами, при комнатной температуре с последующей десорбцией при нагревании.

Перед использованием молекулярные сита нагревают в токе газа с тем, чтобы удалить адсорбированные вещества с поверхности, а затем охлаждают непосредственно перед улавливанием $^{11}\text{C}]\text{CO}_2$.

Синтез $^{11}\text{C}]\text{метилюдида}$ из $^{11}\text{CO}_2$ (газофазный или «сухой» метод)



Равновесие второй реакции смещено в сторону образования метана. Получить большой выход йодистого метила за одну стадию реакции очень трудно.

Метод разработан в 1997 году совместно шведскими и датскими учёными и защищён патентом GENC. Суть патента: циркуляция ^{11}C -метана через трубку, содержащую пары йода, при высокой температуре. Это повышает выход реакции

$^{11}\text{C}]\text{CO}_2 + \text{H}_2 \rightarrow ^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ - реакция двух газов на катализаторе Shimalite-Ni при температуре 360°C .

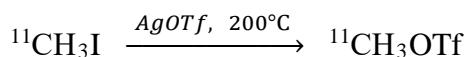
$^{11}\text{C}]\text{CH}_4 + \text{I}_2 \leftrightarrow ^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ - реакция меченого метана с парами йода при температуре 730°C в режиме циркуляции с извлечением продукта реакции на полимерном сорбенте.

Сопоставление двух методов получения $^{11}\text{C}]\text{метилюдида}$

Параметры	«Мокрый» метод	«Сухой» метод
Радиохимический выход	До 80%	До 40%
Время синтеза	5-10 мин	15 мин
Удельная активность	1-5 Ки/мкмоль	>60 Ки/мкмоль
Требования к реагентам	На каждый синтез свежие HI и LiAlH_4 , ТГФ, они не	Заправка сорбентов и I_2 на несколько синтезов сразу

	должны содержать следов влаги и CO ₂	
Стоимость реагентов	Относительно низкая	Высокая стоимость сорбентов и катализатора для конверсии
Процедура очистки модуля	После каждого синтеза, линии и реактор должны быть чистыми и сухими	Упрощена, есть возможность повторной процедуры без очистки
Автоматизация	Сложно автоматизировать	Легко встраивается в модули для ¹¹ C- метилирования

После получения йодистого метила можно использовать его в реакциях метилирования по азоту, кислороду, сере и получать нужные реагенты. Можно перевести метилиодид в метилтрифлат, который имеет некоторые преимущества в дальнейшем синтезе:



Реакции ¹¹C-метилирования: S-, N-, O- метилирование

Метилирующие агенты: ¹¹CH₃I и ¹¹CH₃OTf. Реакции в полярных растворителях (ДМСО, ДМФ) в присутствии основания. Эффективно протекают за короткое время.

Условия синтеза	¹¹ CH ₃ OTf - метилтрифлат	¹¹ CH ₃ I - метилиодид
Температура	20-60°C	80-120°C
Время	1 мин	2-10 мин
Количество прекурсора	<1 мг	1-10 мг

Примеры РФП на основе ¹¹C, полученные путём O- или N-метилирования:

- «Вещество из Питтсбурга» или [N-метил-¹¹C]₂-(4'-метиламинофенил)-6-гидроксibenзотиазол (для диагностики заболевания Альцгеймера)
- O-[¹¹C]methylnaloxonium (визуализация дофаминовых рецепторов)
- N-[¹¹C]methylspiperone (визуализация дофаминовых рецепторов)

Радиотрейсеры на основе меченых аминокислот в диагностике опухолей мозга

Меченые аминокислоты представляют собой важнейший класс радиотрейсеров для ПЭТ исследований мозга. Потребление аминокислот клетками строго связано с синтезом белков. Ввиду малого накопления в сером веществе их использование даёт

более контрастные изображения опухоли по сравнению с ФДГ. Наиболее распространённым РФП класса аминокислот является [^{11}C]метионин.

Преимущества меченых аминокислот в качестве РФП:

- определение границ опухоли, дифференцирование опухоли и метастаз
- мониторинг терапии
- дифференцирование опухоли и очага воспаления
- определение стадии злокачественности (более сложно, чем в случае с ФДГ)

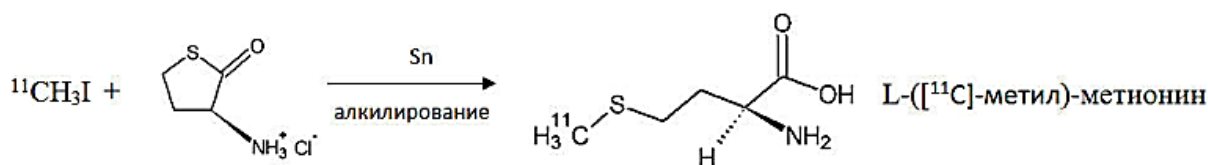
На слайде привели сопоставление [^{18}F]ФДГ и L-[^{11}C]метионина при диагностике анапластической астроцитомы левого таламуса. ПЭТ с [^{18}F]ФДГ оказалась малоинформативной. А использование L-[^{11}C]метионина позволило выявить опухоль, её размер и границы.

РФП на основе метионина

L-[^{11}C -метил]метионин получают на основе «мокрого» метода синтеза метилиодида.



В качестве улучшенного варианта метилирования метионина предложено использовать твёрдофазный носитель в качестве подложки, на которой будет проводиться синтез.



Использование картриджей фирмы Waters, заполненных кремнийорганическим обращённо-фазовым сорбентом C18 (силикагель с пришитыми группами $-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$ обладает сильной гидрофобностью), для получения и одновременной очистки препарата.

- время синтеза: 14 мин
- радиохимический выход: 83% от [^{11}C]CH₃I
- радиохимическая чистота: >99%
- за один синтез нарабатывают до 4 диагностических доз

Если рассмотреть процесс синтеза L-[^{11}C]метионина в совокупности с получением [^{11}C]метилиодида «мокрым» методом и метилировании в режиме online, то радиохимический выход составит: 55-65% от $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ и 10-15% от $^{11}\text{CO}_2$

Причины потерь на различных этапах синтеза:

1. 40-45% активности за счёт радиоактивного распада (время синтеза 15-17 мин)
2. неполное поглощение $^{11}\text{CO}_2$ в растворе LiAlH₄ в ТГФ

3. следы влаги или растворителей в трубках, приводящие к преждевременному гидролизу реагента LiAlH_4 в ТГФ
4. использование некачественного LiAlH_4 в ТГФ
5. неполное удаление растворителя (ТГФ) \Rightarrow неэффективный НГ-гидролиз
6. низкий выход реакции $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ с лактоном

Чтобы убедиться в том, что химическая формула полученного соединения соответствует ожидаемой, проводят анализ радиохимической чистоты ^{11}C метионина методом ВЭЖХ (высокоэффективной жидкостной хроматографии).

Так же осуществляется контроль энантиомерной чистоты препарата. ^{11}C метионин существует в форме L- и D-энантиомеров. В ПЭТ используется L-энантиомер, так как именно он включается в процессы метаболизма. D- ^{11}C метионин не влияет на качество ПЭТ томограммы, но не несёт диагностической информации, следствие – повышение дозовой нагрузки на пациента. Норма: содержание L- ^{11}C метионина не менее 90%.

Причиной образования нежелательного изомера является рацемизация в процессе метилирования в щелочных условиях – необходим тщательный контроль протекания реакции метилирования, в особенности, при метилировании на картридже, где все реагенты сконцентрированы в малом объёме (2,5 мг лактона в 0,2 мл 0,5 М NaOH в растворе этанол:вода 35:65).

Метод хиральной ВЭЖХ позволяет разделить два оптических изомера.

РФП на основе холина

Холин является предшественником в биосинтезе фосфатидилхолина – одного из основных фосфолипидов клеточных мембран. В пролиферирующих клетках уровень фосфатидилхолина (лецитина) повышается. Скорость накопления холина прямо пропорциональна скорости синтеза клеток мембраны, то есть скорости деления клеток, не зависящей от снабжения кислородом.

Меченые аналоги холина – РФП для диагностики методом ПЭТ. Радиоактивные аналоги холина практически не накапливаются нормальной тканью мозга, что позволяет получить высококонтрастные изображения опухолей мозга. Они являются чрезвычайно перспективными РФП для исследований опухолей и метастаз, особенно опухолей предстательной железы (РПЖ), которые не визуализируются с помощью ^{18}F ФДГ.

Синтез ^{11}C холина

^{11}C холин получают из ДМАЭ (диметиламиноэтанола) по стандартной реакции N-метилирования (Рисунок 22).

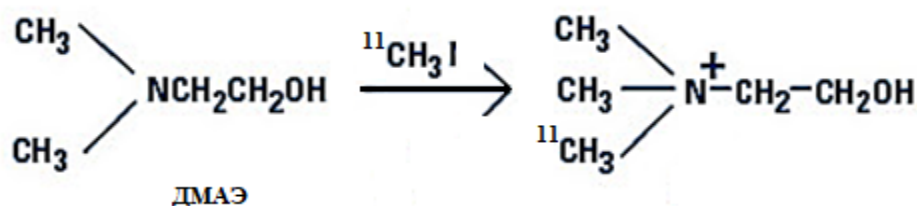


Рисунок 22. Получение [^{11}C]холина из ДМАЭ.

Синтез протекает с высоким выходом в режиме online на одноразовом картридже C18 SepPak. Благодаря катионной природе [^{11}C]холина возможна очистка методом твердофазной экстракции (катионообменный картридж CM Light). Методы синтеза и очистки легко автоматизируются

ДМАЭ играет роль субстрата, растворителя и основания одновременно. То есть не требуется добавление других веществ. Но если после синтеза ДМАЭ остаётся в препарате, то он ингибирует процесс внедрения холина в клеточные мембраны. Проблема: удаление ДМАЭ из реакционной смеси и контроль содержания в конечном продукте.

Два способа синтеза и очистки [^{11}C]холина:

Метод А – в растворе (1999)

- Поглощение [^{11}C]CH₃I в реакционном сосуде, содержащем 0,1 мл исходного ДМАЭ при 0°C
- Реакция 130°C, 5 мин
- Удаление ДМАЭ в токе азота, 130°C, 2 мин
- Растворение остатка в 5 мл воды

Метод Б – online (2000)

- Нанесение раствора 25-50 мкс ДМАЭ в 50-100 мкл этанола на колонку с 0,1-0,5 г смолы tC18 или картридж tC18 SepPak
- Поглощение [^{11}C]CH₃I в ДМАЭ на колонке tC18, реакция метилирования

Общее для двух методов:

- Присоединение катионообменного картриджа SepPak Light Accell Plus CM
- Промывка картриджей этанолом (1 раз) и водой (2 раза)
- Элюирование ^{11}C -холина 0,9% раствором NaCl
- Стерилизация (асептическое фильтрование)

Анализ [^{11}C]холина и содержания ДМАЭ в препарате проводят методом ВЭЖХ на катионообменной колонке. Холин и ДМАЭ (примеси) не детектируются с использованием стандартных УФ детекторов, анализ ДМАЭ можно проводить методом ГЖХ.

Синтез рецепторных радиолигандов для выявления молекулярно-клеточных процессов, протекающих при болезнях Альцгеймера и Паркинсона

Оба заболевания связаны с нарушением проводимости нервных импульсов из-за образования амилоидных бляшек на нейронах. Чтобы применять ПЭТ для диагностики этих заболеваний, нужно использовать такие вещества, которые позволяют явно выявлять такие образования в головном мозге:

1). [^{11}C]PIB («вещество из Питтсбурга») - радиолиганд для визуализации бета-амилоидных агрегатов при болезни Альцгеймера методом ПЭТ, аналог тирофлавина.

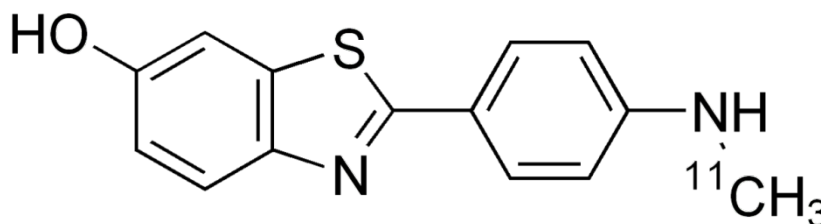


Рисунок 23. Pittsburgh compound B

Синтез ^{11}C -PIB поводится на основе [^{11}C] метилиодида (газофазный метод). [^{11}C]PIB специфично связывается с амилоидным бета-протеином. ПЭТ с [^{11}C]PIB позволяет выявлять локализацию амилоидных бляшек и их плотность.

2). [^{11}C]-раклоприд также получают на основе [^{11}C] метилиодида (газофазный метод). ^{11}C -раклоприд селективно связывается с D2-рецепторами дофаминэргической системы. ПЭТ с ^{11}C -раклоприд используется в диагностике болезни Паркинсона.

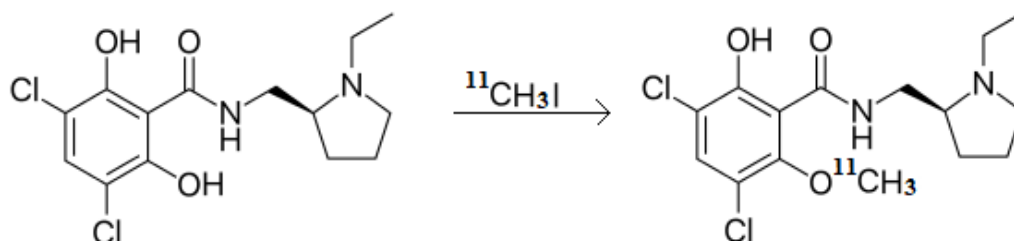


Рисунок 24. Схема синтеза [^{11}C]-раклоприда

ПЭТ в кардиологии

Основные радиотрейсеры:

- [^{18}F]ФДГ - оценка жизнеспособности миокарда
- [^{11}C]ацетат - окислительный метаболизм
- [^{13}N]NH₃ - перфузия миокарда
- $^{82}\text{RbCl}$ - перфузия миокарда (генераторный радионуклид)

В кардиодиагностике ПЭТ уступает методу ОФЭКТ. Число ПЭТ трейсеров крайне невелико.

Синтез РФП из $^{11}\text{CO}_2$ по реакции карбоксилирования

Карбоксилирование - введение карбоксильной группы в молекулы через CO_2 .

1- ^{11}C ацетат можно получить (Рисунок 25) реакцией $^{11}\text{CO}_2$ с реактивом Гриньяра (CH_3MgCl). Концентрация и объем реагента: CH_3MgCl в ТГФ (0,5 М, 200 μL)

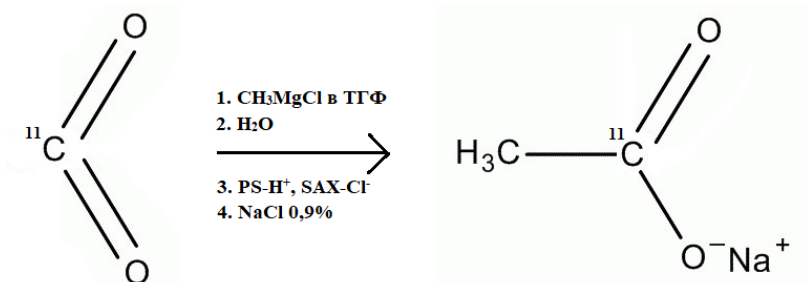


Рисунок 25. Получение 1- ^{11}C ацетата реакцией карбоксилирования

Стадии синтеза:

1. Улавливание $^{11}\text{CO}_2$ в течение 4 мин, перемешивание 30 сек
2. Остановка реакции (quenching): 1 мл CH_3COOH (1 мМ)
3. Перенос реакционной смеси в другой сосуд с 5 мл CH_3COOH (1 мМ)
4. Очистка на картриджах PS-H^+ и PS-Ag^+ SepPak (удаление кислоты, магния, галогенов)
5. Улавливание 1- ^{11}C ацетата на картридже MaxiClean SAX (Alltech)
6. Элюирование 1- ^{11}C ацетата с картриджа SAX 0,9% раствором NaCl и стерильное фильтрование.

Особенности реакций $^{11}\text{CO}_2$ с реактивом Гриньяра:

- могут образоваться радиохимические примеси
 - при избытке реактива Гриньяра может получиться другой меченый продукт
 - при нагревании происходит образование побочных продуктов – димеров, поэтому смесь нельзя нагревать
- реакция с $^{11}\text{CO}_2$ при комнатной температуре идет очень быстро
- реактив Гриньяра бурно реагирует с водой со вспышкой пламени
- флакон после реакции не мыть сразу водой; если мыть, то очень осторожно, добавлять воду шприцом по каплям, работать в очках.

При подготовке реактива Гриньяра:

- Избегать попадания атмосферного CO_2 в реакционный сосуд (использовать перчаточный бокс с азотом или другой вариант, обеспечивающий инертную атмосферу)
- Избегать контакта с влажным воздухом, использовать очень сухую посуду

- На выход $^{11}\text{CO}_2$ из реакционного сосуда устанавливать трубку с аскаритом для предотвращения попадания радиоактивности в атмосферу

Диагностические возможности 1- ^{11}C ацетата

1- ^{11}C ацетат - основной РФП для исследований окислительного метаболизма миокарда методом ПЭТ, синтез разработан в 1982 году.

Радиотрейсер хорошо экстрагируется кардиомиоцитами, его активированная форма ^{11}C ацетил-КоА является исходным метаболическим субстратом в цикле трикарбоновых кислот (цикл Кребса), в ходе которого он окисляется до $^{11}\text{C}\text{CO}_2$ и воды.

Радиоактивная метка элиминирует из миокарда в виде $^{11}\text{C}\text{CO}_2$, и скорость её выведения точно отражает скорость митохондриального окислительного метаболизма кардиомиоцитах (MVO_2).

В последние годы 1- ^{11}C ацетат применяется в диагностике рака предстательной железы (РПЖ) и выявлении близлежащих и отдаленных метастазов, а также для визуализации опухолей гинекологического тракта.

Синтез 1- ^{11}C ацетата проводится в специальном автоматизированном модуле, который соответствует требованиям GMP

1- ^{11}C ацетат получают реакцией $^{11}\text{CO}_2$ с CH_3MgCl с последующим водным гидролизом. Затем проводят очистку на одноразовых картриджах. В контакте с конечным продуктом могут быть только стерильные материалы.

Лекция 5. Радионуклидный генератор

Радионуклидный генератор - система двух генетически связанных между собой радионуклидов, в которой один - более короткоживущий (дочерний) постоянно генерируется в результате распада другого (материнского), имеющего больший период полураспада.

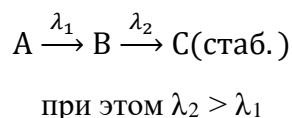
Дочерний радионуклид, являясь элементом, отличным от материнского, может быть легко отделён от материнского и извлечён из генератора. При помощи радионуклидного генератора потребитель многократно получает нужный ему радионуклид непосредственно на своём рабочем месте.

Генераторные радионуклиды - удобная и дешёвая альтернатива циклотронным радионуклидам.

Радионуклидный генератор - Radionuclide cow (радионуклидная корова).
Элюирование - milking (доение).

Последовательный распад и генетические пары радионуклидов

Обычно, для создания радионуклидных генераторов выбирают цепочки нуклидов с двумя последовательными распадами (то есть, тремя нуклидами: материнским радионуклидом, дочерним радионуклидом, конечным стабильным нуклидом)



Последовательный распад генетической пары радионуклидов

Распад одного радионуклида:

$$dN = -\lambda N dt$$

$$N(t) = N_0 e^{-\lambda t}$$

Последовательный распад двух ядер:

$$\frac{dN_2}{dt} = \lambda_1 N_1 - \lambda_2 N_2$$

или

$$\frac{dN_2}{dt} + \lambda_2 N_2 - \lambda_1 N_{10} e^{-\lambda_1 t} = 0$$

После интегрирования получим:

$$N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_{10} (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}) + N_{20} e^{-\lambda_2 t}$$
$$\approx N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_{10} |e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}|$$

Равновесие в генетических парах радионуклидов ("подвижное равновесие", "вековое равновесие")

Подвижное равновесие ($T_{1/2}(1) > T_{1/2}(2)$, $\lambda_2 > \lambda_1$)

$$N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_{10} |e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}| \Rightarrow N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_{10} e^{-\lambda_1 t}$$

Так как

$$N_1 = N_{10} e^{-\lambda_1 t} \Rightarrow \frac{N_1}{N_2} = \frac{\lambda_2 - \lambda_1}{\lambda_1}$$

Равновесное количество дочернего радионуклида:

$$|N_2|_{\text{равн}} = \frac{\lambda_1 N_1}{\lambda_2 - \lambda_1}$$

или

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{\lambda_2 - \lambda_1}{\lambda_2}$$

В зависимости от соотношения между λ_1 и λ_2 , величина A_1/A_2 может принимать любое значение от 0 до ∞ . Таким образом, при подвижном равновесии дочерняя активность больше материнской на фактор $\frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1}$.

$$(N_2)_{\text{равн}} = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_{10} e^{-\lambda_1 t}$$

В точке, где активность дочернего нуклида достигает максимума, активность материнского нуклида всегда равна активности дочернего.

Накопление дочернего радионуклида в радионуклидном генераторе:

$$N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_{10} |e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}| \Rightarrow$$
$$A_2 = \frac{\lambda_2}{\lambda_2 - \lambda_1} \cdot A_1^0 \cdot e^{-\lambda_1 t} \cdot [1 - e^{-(\lambda_2 - \lambda_1)t}]$$

A_2 – количество дочернего радионуклида, накопившемся в радионуклидном генераторе к настоящему моменту времени

A_1^0 – активность материнского радионуклида на момент зарядки генератора

λ_1 – постоянная распада материнского радионуклида

λ_2 – постоянная распада дочернего радионуклида

t – время, прошедшее с момента зарядки генератора

τ – время, прошедшее с момента предыдущего отделения дочернего радионуклида

Нужно понимать, что это уравнение – это теория, и на практике 100% выхода добиться невозможно.

После отделения дочернего радионуклида его активность возрастает со временем и достигает максимума при:

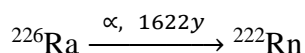
$$\tau_{\max} = \frac{\ln \frac{\lambda_2}{\lambda_1}}{\lambda_2 - \lambda_1}$$

Отношение активностей дочернего и материнского изотопов выражается следующим образом:

$$\frac{A_2}{A_1} = \frac{\lambda_2}{\lambda_2 - \lambda_1} \cdot [1 - e^{-(\lambda_2 - \lambda_1)t}]$$

Радионуклидные генераторы

В 1920 г. Gloracchino Failla предложил генератор ^{226}Ra ($T_{1/2}=1620$ лет)/ ^{222}Rn ($T_{1/2}=3,8$ сут) - первый радионуклидный генератор, использованный в медицинских целях.



Позднее в Брукхейвской Национальной Лаборатории (BNL) сконструировали искусственный генератор ^{132}Te ($T_{1/2}=3,2$ сут)/ ^{132}I ($T_{1/2}=2,3$ ч). Эта генераторная пара дала старт появлению целой серии коммерческих радионуклидных генераторов.

На сегодняшний день существует огромное количество генетических пар радионуклидов, которые теоретически могут быть использованы в ядерной медицине (радионуклидная диагностика, радионуклидная терапия, *in vitro* методы). Но реального применения добились всего несколько пар нуклидов из этого списка. Это связано с тем, что, несмотря на отличные характеристики радионуклидов, их наработка может быть очень трудоёмкой и затратной.

Радионуклидные генераторы по типу исполнения (процессу разделения радионуклидов):

- Экстракционные (исторически первые; высокий коэффициент разделения; но сложно автоматизировать)
- Хроматографические
 - элюируемые под положительным давлением
 - элюируемые под отрицательным давлением (подавляющее большинство): есть свободный вход и свободный выход, поэтому можно регулировать скорость элюирования

Генераторы, поступающие в продажу, имеют интервал элюирования, что позволяет выбирать скорость. На меньшей скорости кривая элюирования сужается.

Требования к радионуклидным генераторам:

- Материнский радионуклид может быть получен в необходимых количествах

- Период полураспада материнского радионуклида должен быть по возможности большим
- Разделение должно быть быстрым и простым
- Высокий выход при выделении дочернего радионуклида с высокой РХЧ и РНЧ, химической форме, наиболее удобной для использования
- Объем продукта должен быть минимальным
- Продукт не должен иметь слишком агрессивную среду
- Продукт должен быть стерильным и апиrogenным
- Защита и конструкция генератора должны быть эффективными и экономичными

Идеальная генераторная система для медицины должна обладать следующими параметрами:

- Номинальная активность
- Выход дочернего радионуклида (%)
- Проскок (примесь) материнского радионуклида (%)
- Кривая элюирования дочернего радионуклида
- Относительное содержание примесей
- Срок службы

Проскок - это отношение активности материнского радионуклида в элюате к его активности в колонке генератора (%). Используется при разработке нового генератора.

Примесь - это отношение активности материнского радионуклида в элюате к активности дочернего радионуклида в элюате (%). По этой величине можно судить, надлежащего ли качества раствор радионуклида или нет.

Зная о кривой элюирования каждого генератора, можно отбросить первую и последнюю фракцию и добиться, таким образом, большей удельной объемной активности в элюате.

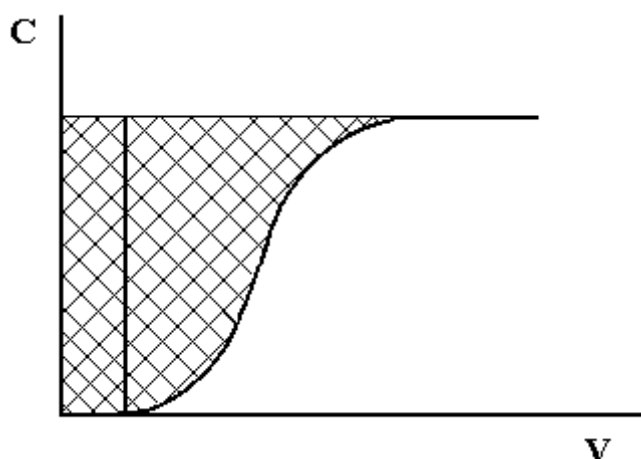


Рисунок 26. Интегральная кривая элюирования

Кривая элюирования может быть интегральной и дифференциальной. Интегральная кривая (Рисунок 26) показывает, на какой фракции будет достигнута необходимая активность. А дифференциальная (Рисунок 27) показывает, какую фракцию элюата можно отбросить для повышения общей объёмной активности элюата.

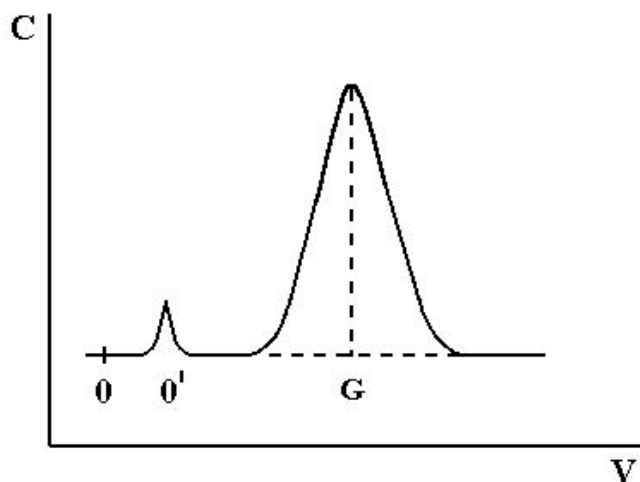


Рисунок 27. Дифференциальная кривая элюирования

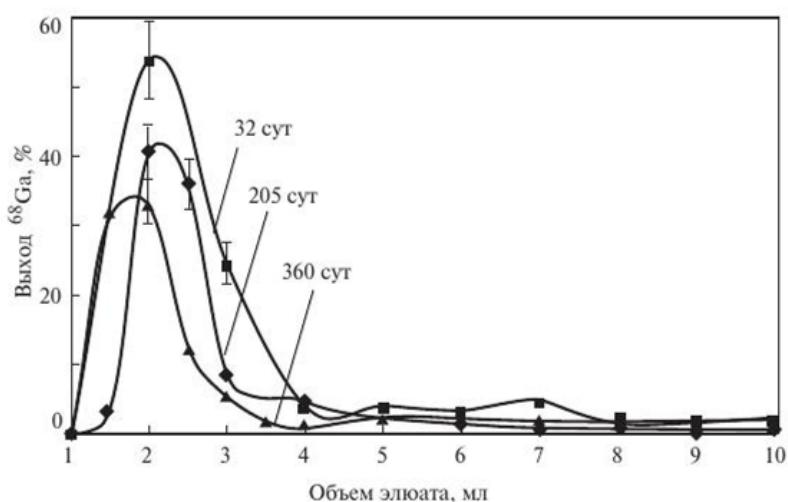


Рисунок 28. Изменение формы кривой элюирования при изменении скорости элюирования

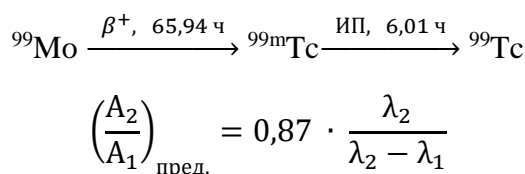
Конструкция со свободным входом и выходом из колонки генератора очень удобна, так как от скорости меняется форма кривой элюирования (Рисунок 28) и тем самым меняется то, какой номинальный объем может быть получен при элюировании колонки генератора.

Начало кривой элюирования вне зависимости от скорости должно находиться в одном месте. Если при изменении скорости элюирования произошло смещение начала кривой, это неправильно.

Рассмотрим конкретные примеры радионуклидных генераторов.

Радионуклидный генератор $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$

Является наиболее часто используемым генератором в ядерной медицине. На сегодняшний день нет во всём мире ни одного генератора, который превосходил бы этот по применимости.



0,87 – поправочный коэффициент. Необходим, так как часть ^{99}Mo сразу падает в ^{99}Tc .

Несмотря на некоторые недостатки, сами по себе ядерно-физические свойства технеция настолько удобны для проведения, в частности, ОФЭКТ (например, подходящая для детектирования энергия гамма-частиц), что на все минусы можно закрыть глаза. РФП на основе технеция позволяют очень эффективно диагностировать те или иные процессы.

Большинство коммерческих генераторов используют хроматографическую колонку, в которой ^{99}Mo адсорбирован на оксиде алюминия.

Количество сорбента зависит от удельной активности ^{99}Mo . Обычно ^{99}Mo фиксируют на оксидом носителя в форме молибдат-ионов (MoO_4^{2-}) или фосформолибдат-ионов ($\text{H}_4[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6]^{3-}$).

В слабокислом растворе молибдат-анионы полимеризуются, образуя $\text{Mo}_x\text{O}_y^{n-}$ - гомополимеры. В присутствии катионов Al^{3+} образуется устойчивый гидрополимер. ПОЕ сорбента при сорбции из раствора молибдата с $\text{pH} = 2,5-3,5$ составляет 15-20 мг Мо/г, из раствора с $\text{pH} = 6,0$ составляет 0,8 мг Мо/г, из раствора $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{Na}_3\text{PO}_4$ - 70-80 мг Мо/г.

Цена генератора зависит от номинальной активности генератора (от 80 тысяч рублей).

Для того, чтобы проверить, получили ли мы нужную активность, используются доз-калибраторы.

Как правило, в клинике такой генератор используется не больше недели, так как перестаёт хватать активности на всех пациентов. А в научных исследованиях или валидациях методик анализа хватает и второй, и третьей недели работы генератора. Но в клинических исследованиях каждому пациенту необходимо вводить индивидуальную активность, которая учитывается, исходя из чувствительности камеры, характеристики препарата, веса пациента и так далее. Часто нужны довольно высокие активности, поэтому после недели работы генераторы из клиники списывают и заказывают новые.

Этот генератор является истинным изделием медицинского назначения, так как сам по себе элюат из генератора - раствор пертехнетата натрия – может быть использован как диагностический агент. Пертехнетат-ион имеет аналогичное распределение в организме через натрий-йод симпортеры и накапливается в щитовидной железе.

Радионуклидный генератор $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Эта генетическая пара была предложена задолго до $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ и задолго до появления позитронно-эмиссионной томографии. Ядерная медицина только зарождалась, когда была предложена эта система для получения позитронно-излучающего радионуклида, который мог быть применён в диагностических целях.

International Journal of Applied Radiation and Isotopes, 1960, Vol. 8, pp. 90-94. Pergamon Press Ltd. Printed in Northern Ireland

A Positron Cow

G. I. GLEASON

Abbott Laboratories, Oak Ridge, Tennessee, U.S.A.

(Received 6 January 1960)

Short-lived Ga^{68} can be prepared from its long-lived parent, Ge^{68} , thus providing a convenient source of positron-emitting activity for medical or other applications. Solvent extraction is used for the rapid separation of the gallium daughter and a method for the production of the germanium parent is given. A review of the usable positron emitters serves to underscore the advantages of the $\text{Ge}-\text{Ga}^{68}$ system.

UNE VACHE À POSITRONS

Le Ga^{68} de courte vie peut se préparer de son antécédent de longue vie, le Ge^{68} , fournissant ainsi une source d'activité lançant des positrons, convenable aux applications médicales parmi autres. L'extraction à solvants sert à la séparation rapide du gallium généré et on présente une méthode de produire le germanium antécédent. Une révision des émetteurs utilisables de positrons sert à souligner les avantages du système $\text{Ge}-\text{Ga}^{68}$.

ИСТОЧНИК ПОЗИТРОНОВ

Короткоживущий Ga^{68} , полученный из долгоживущего Ge^{68} может быть использован в качестве удобного источника позитронов для медицинских и других целей. Быстрое отделение галлия производится путем экстрагирования его из раствора. Описан метод получения исходного германия. Обзор применяемых источников позитронов показывает преимущества системы $\text{Ge}-\text{Ga}^{68}$.

EINE POSITRONEN KUH

Kurzlebige Ga^{68} kann aus der langlebigen Muttersubstanz Ge^{68} hergestellt werden, wodurch eine bequeme Positronen-Quelle für medizinische und andere Zwecke erhalten wird. Extraktion aus der Lösung wird zur schnellen Abtrennung von Gallium verwendet und die Methode zur Herstellung der Muttersubstanz Germanium wird angegeben. Es wird ein Überblick über die verwendbaren Positronenstrahler gegeben aus welchem die Vorteile des $\text{Ge}-\text{Ga}^{68}$ Systems deutlich hervorgehen.

Рисунок 29. Статья «Позитронная корова» с первым упоминанием пары $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

В 1960 год вышла статья под названием «Позитронная корова» (Рисунок 29), которая содержала первое упоминание применения генетической пары $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$. Назвать это генератором в нашем современном понимании довольно сложно. Это было экстракционное разделение. В делительной воронке производили экстракцию 25%-м ацетил-ацетоном в циклогексане. ^{68}Ga отделялся от германия. Потом производили реэкстракцию в раствор соляной кислоты. Это было очень удобно, поскольку ^{68}Ga в растворе 0,1 М HCl находится в ионной форме и очень хорошо вступает в дальнейшие реакции комплексообразования и мечения молекул. Но по ряду причин про этот генератор очень надолго забыли.

Впоследствии Юкио Яно и Хэлом Энджером был разработан первый генератор $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ медицинского назначения (Рисунок 30). Это был деревянный кожух, сверху обитый алюминием, было немного свинца для защиты. Внутри находилась стеклянная делительная воронка, наполненная оксидом алюминия, в которую помещался

сорбированный германий. Галлий из данного генератора элюировали раствором ЭДТА. Выходы были достаточно высокими, а примесь германия была очень низкой. Но в результате получали галлий в комплексе с ЭДТА. Это плохо, так как из-за схожих констант устойчивости трудно перекомплексовать галлий-ЭДТА в галлий-ДОТА. Дальнейшая применимость получаемых растворов галлий-ЭДТА была ограничена.

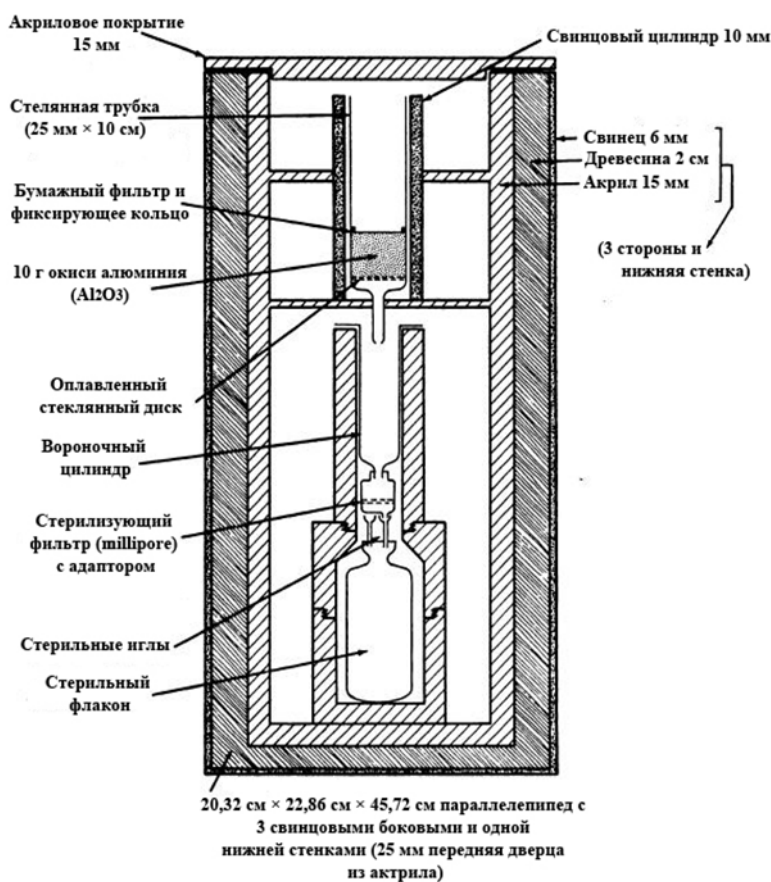


Рисунок 30. Схема первого генератора медицинского назначения $^{68}Ge/^{68}Ga$.

Впоследствии было опубликовано большое количество работ по методам разделения $^{68}Ge/^{68}Ga$:

- на катионообменных смолах
- на анионообменных смолах
- на пирогалловых смолах.

Первый коммерчески доступный генератор был создан в России в Институте биофизики, который открыл применимость препаратов галлия по всему миру. Одни из первых работ по применению рецептор-специфичных препаратов галлия были сделаны с использованием данного генератора.

На сегодняшний день такие генераторы представляют из себя колонку, заполненную диоксидом титана, модифицированная диоксидом церия, на которой сорбирован ^{68}Ge . Для элюирования галлия применяется 0,1М раствор HCl . Есть и другие варианты исполнения генераторов $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ (Рисунок 31).

ЗАО «Циклотрон (г. Обнинск, Россия)



Eckert & Ziegler (Германия)



itG – itm Group (Германия)



Рисунок 31. Коммерчески доступные генераторы $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

В генераторе фирмы Eckert & Ziegler колонка от классического варианта генератора помещена в дополнительный кожух. А компания ITG использовала для своих генераторов немного другую матрицу: силикагель, модифицированный тригидроксibenзоатом. Это очень хороший генератор по своим характеристикам. Элюирование происходит 0,05 М HCl , то есть ещё более низкой концентрации соляной кислоты достаточно. Так как в силикагеле отсутствуют какие-либо металлы, то металлические примеси в конечном продукте минимальны. Проскок германия тоже очень низкий. Но сам по себе модифицированный силикагель обладает не очень высокой радиационной стойкостью, поэтому его период использования составляет полгода (срок использования генератора не на силикагеле – 1 год).

Характеристики коммерчески доступных генераторов $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Параметр	Генератор ЗАО "Циклотрон" (Обнинск)	Генератор IGG, Eckert & Ziegler (Германия)	Генератор iThemba LABS (ЮАР)	Генератор ITG (Германия)
Сорбент	TiO_2 модиф. ZrO_4	TiO_2	SnO_2	Силикагель модиф. 3,4,5-тригидроксibenзоатом
Элюент	0,1 М HCl	0,1 М HCl	0,6-1,0 М HCl	0,05 М HCl
Проскок ^{68}Ge , %	<0,005	<0,001	<0,01	<0,005
Выход ^{68}Ga , % -начальный период -после 200 элюирований	>75	>65	80	80
	~60	>65	нет данных	нет данных
Объем элюата, мл	5	5-7	2-4	5
Активность ^{68}Ga во фракции 1 мл, %	80	65-70	нет данных	нет данных
Гарантированное время использования	≥ 1 год или ≥ 400 элюирований	1 год или 300 элюирований	нет данных	6 месяцев
Рекомендуемое время использования	Определяет потребитель (возможно до 3 лет)	Пока проскок ^{68}Ge не превысит $5 \cdot 10^{-3}\%$	нет данных	6 месяцев

Период полураспада ^{68}Ge 271 день, что является его преимуществом по сравнению с $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ генераторами.

В южном полушарии наибольшее распространение получили генераторы на основе диоксида олова. Но их существенный недостаток заключается в том, что для элюирования галлия необходимо использовать соляную кислоту довольно высокой концентрации (0,6-1,0 М), которую затем достаточно сложно нейтрализовать, сохранив нужный pH. А для синтеза комплексов с галлием величина pH – один из ключевых параметров: даже при незначительном его смещении падает выход реакции.

Большую часть объема генератора занимает защитный свинцовый кожух, внутри которого уже находится маленькая стеклянная делительная воронка.

Если препараты технеция представляют препараты второго поколения, то есть некоторые простые комплексы технеция, то препараты галлия являются препаратами третьего поколения. Если у технеция достаточно сложная химия, то галлий сам по себе

катион и препараты на основе его синтезируются с использованием различных бифункциональных хелатирующих агентов.

Для таких радионуклидов, как галлий, иттрий, лютеций (в отличие от технеция), очень важно отсутствие химических примесей металлов в самом элюате, потому что они могут конкурировать с примесными металлами (Рисунок 32), тогда будут образовываться те же самые комплексы, но с другими металлами, которые никакая ПЭТ-камера не увидит. Такой параметр, как химическая чистота элюата, очень важен.

Использование генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ для синтеза ^{68}Ga -РФП в повседневной медицинской практике

Наличие конкурирующих (примесных) металлических катионов в элюате препятствуют образованию комплексов $^{68}\text{Ga}^{3+}$. Проскок материнского изотопа ^{68}Ge через колонку с сорбентом имеет порядок 10^{-3} % от общей активности ^{68}Ge в генераторе на момент элюирования. Также элюат сам по себе содержит критические примеси, такие как Fe(III), Mn(II), Zn(II). Кроме того Ti(IV) и Sn(IV), в зависимости от типа генератора, также могут элюироваться из генератора в относительно высоких концентрациях. Таким образом, очистка и концентрирование элюата генератора ^{68}Ga являются обязательными процедурами перед собственно реакцией мечення биоконъюгатов.

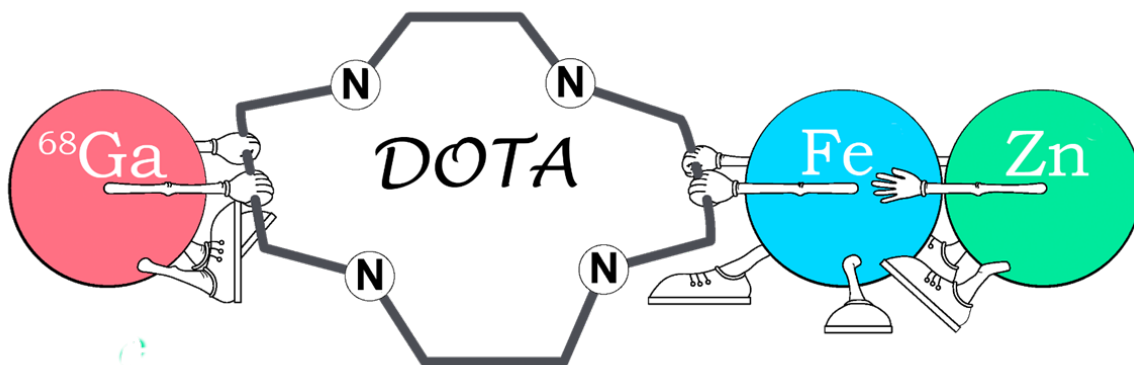


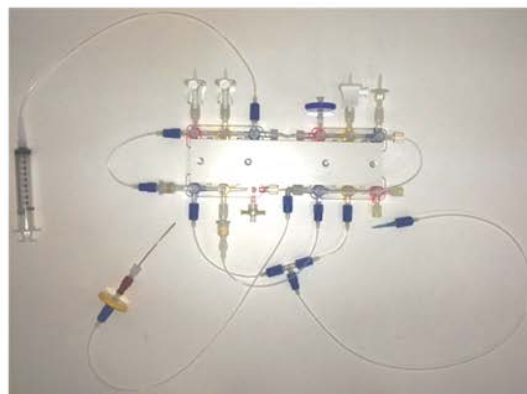
Рисунок 32. Схематическое изображение конкуренции ^{68}Ga с примесными металлами.

Автоматизация процедуры очистки и концентрирования элюата генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Поскольку сам по себе первый генератор и все, разработанные за ним впоследствии, не являются изделиями медицинского назначения, а предназначались для научно-исследовательских работ. Для применения его в медицинской практике были разработаны различные методы доочистки, доконцентрирования этого раствора. И для удобства были созданы различные автоматизированные модули (Рисунок 33).



Автоматизированный модуль
ModularLab PharmTracer



Модифицированная одноразовая
кассета для синтеза РФП



Рабочие растворы, готовые к
использованию в синтезе

Рисунок 33. Автоматизированный модуль ModularLab PharmTracer производства Eckert&Ziegler Eurotope GmbH (Германия)

Этот модуль предназначен именно для получения радиофармацевтических препаратов в клиниках и введения их пациентам. Благодаря одноразовым кассетам исключены кросс-контаминация и любое загрязнение, нет нужды отмывать какие-либо коммуникации после элюирования.

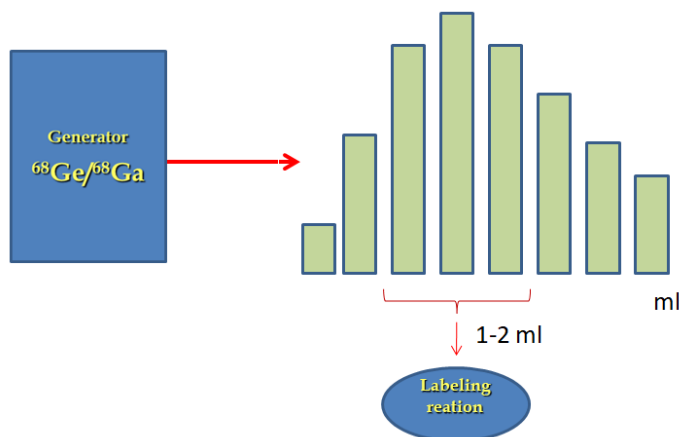
В Российской Федерации на сегодняшний день генератор галлия вместе с таким модулем уже зарегистрирован как изделие медицинского назначения.

Химия галлия

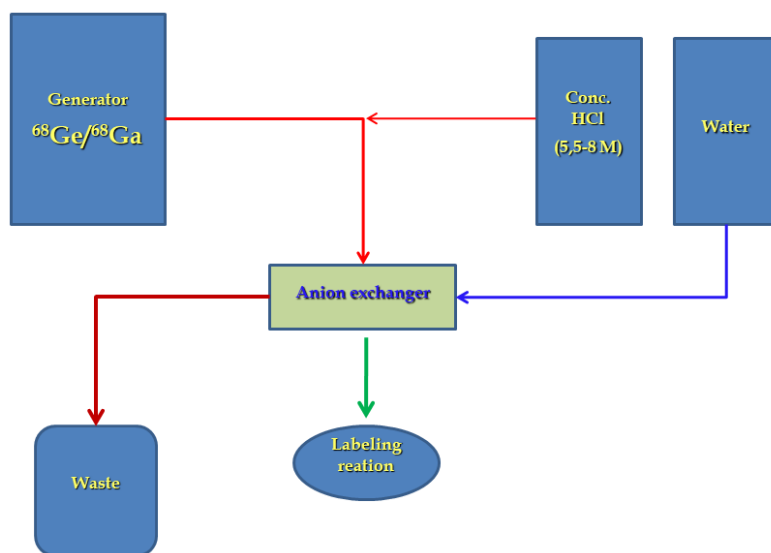
Конфигурационная лабильность галлия позволяет нам, используя различные среды, произвести достаточно эффективное выделение и концентрирование галлия.

Методы очищения (methods of purification):

- вырез пика на кривой элюирования (fractionation) – не метод очистки, а пропорциональное сокращение химических примесей, так как ни химические примеси, ни материнский радионуклид не имеют ярко-выраженного пика (в отличие от дочернего радионуклида)

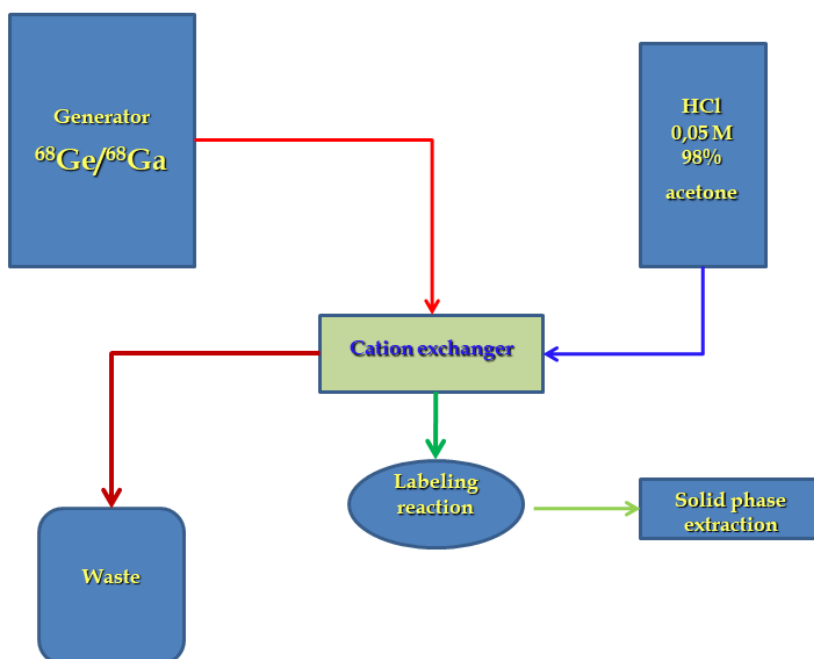


- использование анионного обмена (anion exchange): галлий с ростом концентрации переходит из гексааква-катиона в форму хлоргаллат-аниона. Смешав элюат генератора галлия с концентрированной (>5 моль/л) соляной кислотой, переводим галлий в форму аниона. Галлий может быть сорбирован на анионообменной смоле. Затем снижением кислотности можем смыть оттуда галлий. Но очистить галлий от примесей, в частности от трёхвалентного железа, практически невозможно.

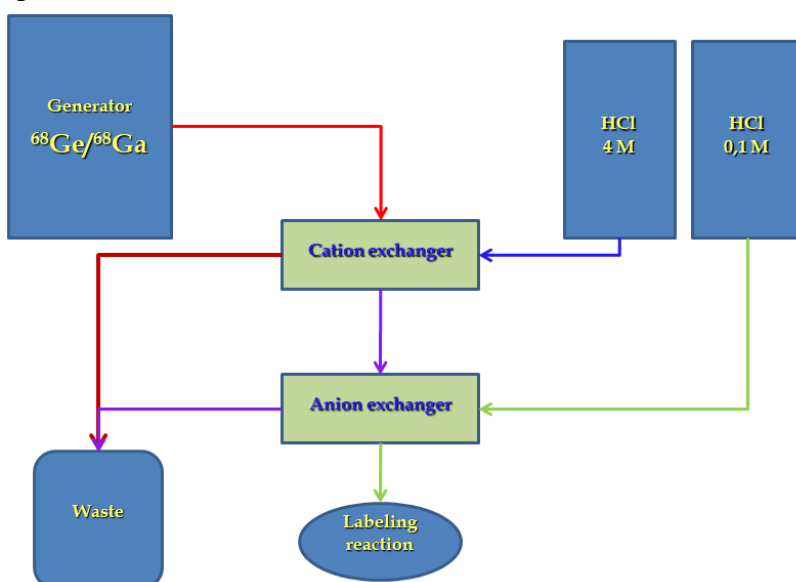


- использование катионного обмена (cation exchange): так как галлий находится в растворе элюата в форме катиона, он может в каком-то количестве быть сорбированным на катионообменнике, а впоследствии применением ионного обмена в смешанных средах может быть элюирован с колонки смесью 0,05M

HCl и 98% ацетона. Этот метод не очень подходит для производства РФП, так как в ацетоне реакции комплексообразования идут очень активно, и из-за этого этот раствор приходится доочищать при помощи твёрдофазной экстракции или вымыванием спиртом.



- комбинированный вариант (cation and anion exchange): сначала производят сорбцию на катионообменной смоле, затем смывают концентрированной соляной кислотой и переводят на анионообменную смолу, и оттуда смывают разбавленной соляной кислотой и используют в реакции меченя. Этот метод позволяет добиться наиболее высоких результатов очистки от химических примесей.



Радионуклидный генератор $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$

Следующий радионуклидный генератор, который заслуживает внимания и который является коммерчески доступным это генератор пары вольфрам-рений.

Re стоит в таблице рядом с Tc, поэтому их химия очень близка. Если $^{99\text{m}}\text{Tc}$ распадается с испусканием гамма-квантов, то ^{188}Re претерпевает β^- распад. Используя эту пару, можно проводить сначала диагностику, а после замены радионуклида проводить и терапию.

^{188}Re распадается в уже стабильный элемент ^{188}Os (Рисунок 34). То есть тут нет каких-то дополнительных дочерних радионуклидов.

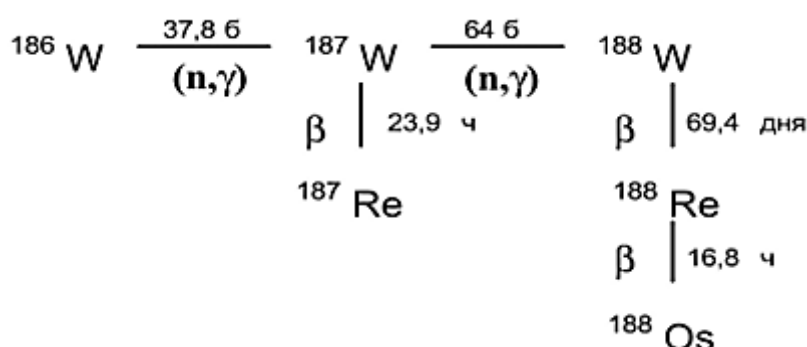


Рисунок 34. Схема радиоактивного распада ^{186}W

Генератор $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ выпускается только в двухугольчатом варианте исполнения, так как из-за β^- -излучающего радионуклида радиолит становится ещё сильнее. Поэтому колонку приходится осушать.

Радионуклидный генератор $^{113}\text{Sn}/^{113\text{m}}\text{In}$

Этот генератор долгое время производился, но на сегодняшний день необходимость в нём пропала. Он использовался для синтеза РФП для ОФЭКТ и получил популярность в своё время из-за того, что период полураспада олова составляет 115 дней, поэтому генератор индия можно было транспортировать на большие расстояния, чем генератор технеция.

Некоторые ограничения вносило то, что индий испускает гамма-кванты со средней энергией 391 КэВ, а для ОФЭКТ оптимальный диапазон: 100-200 КэВ. Из-за этого получались не очень качественные изображения.

После того, как логистика доставки генераторов стала намного удобнее, этот генератор сняли с производства.

Радионуклидный генератор $^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$

Генератор стронций-рубидий – второй генератор, который можно назвать изделием истинно медицинского назначения.

^{82}Sr имеет период полураспада 22 дня, а ^{82}Rb имеет период полураспада чуть больше минуты. Помимо этого щелочные металлы сложно закомплексовать так, чтобы получилось что-нибудь не токсичное. Поэтому сам элюат прямо во время элюирования вводится в вену пациента.

^{82}Rb позволяет отследить перфузии миокарда, визуализируя разность потенциалов Na-K в сердечной мышце. Это единственное возможное применение этого радионуклида

Для наработки ^{82}Sr необходимы энергии от 50 МэВ (лучше 70).

В процессе облучения образуется огромное количество радионуклидных примесей, очиститься от которых нельзя (так как это один и тот же элемент). Но их количество можно минимизировать, придерживаясь определённой энергии.

В качестве сорбента используют оксид олова.

Несмотря на вышеперечисленные ограничения, данные генераторы пользуются большой популярностью во всём мире. Стронций, который нарабатывается в России, продаётся за рубеж.

Радионуклидный генератор $^{44}\text{Ti}/^{44}\text{Sc}$

По характеристикам материнского и дочернего радионуклидов этот генератор близок к идеальному. Период полураспада ^{44}Ti – 60 лет, а период полураспада ^{44}Sc составляет 4 часа. Такого периода полураспада хватает для визуализации почти любого процесса в организме (кроме распределения клеток или моноклональных антител – для этого нужны суточные РФП).

Но коммерческой выгоды от производства и продажи такого долгосрочного генератора нет. И разделение титана и скандия довольно сложное.

Лекция 6. Создание современных радиофармпрепаратов

Все радионуклиды в РФП (как для ПЭТ- так и для ОФЭКТ-диагностики) могут быть взаимозаменяемы (исключение: технеций). То есть в одну и ту же молекулу, используя подходящий хелатирующий агент, можно ввести гамма-распадающийся (ОФЭКТ), позитроно-излучающий (ПЭТ) или бета-распадающийся (радионуклидная терапия) радионуклид.

Метод изотопных индикаторов

Прародитель ядерной медицины - метод изотопных индикаторов.

Изотопные индикаторы - вещества, имеющие отличный от природного изотопного состава, и, благодаря этому, используемые в качестве метки при изучении самых разнообразных процессов. Роль изотопной метки выполняют стабильные или радиоактивные изотопы химических элементов, которые легко могут быть обнаружены и определены количественно.

Метод изотопных индикаторов (=метод меченых атомов) был впервые предложен Георгом де Хевеши в 1923, который был удостоен Нобелевской премии по химии в 1943 году.

Когда эта концепция начала развиваться, учёные начали наблюдать, как сами по себе радионуклиды в их естественной химической форме распределяются в организме.

Было обнаружено, что ^{89}Sr активно накапливается в эпифизарных частях костей (в активных зонах роста), а ^{32}P накапливается целиком в костном матриксе, иногда затрагивая костный мозг. ^{68}Ga при введении его с носителем через какое-то время тоже распределяется в костях.

Радиофармацевтические препараты

Радиофармацевтические препараты (радиофармпрепараты, РФП) или радиофармацевтические лекарственные средства/препараты (РФЛС(П)) - действующее начало методов ядерной медицины; основа того, что используется в методах радиофармацевтической химии (так как радионуклид – основа методов радиохимии).

Радиофармацевтический препарат - лекарственный препарат, который в готовый для использования в форме содержит один или несколько радионуклидов (радиоактивных изотопов).

На сегодняшний день несколько радионуклидов в одном РФП могут содержаться только в случае наличия примесей (количество радионуклидных примесей строго нормировано, так как они увеличивают дозовые нагрузки на пациента, а так же могут создавать ложную картину при детектировании).

Все существующие методы (КТ, МРТ) – это не прямая визуализация, а реконструирование изображения компьютером. Только рентген является прямым методом

МРТ показывает плотность протонов. В основном, ориентация идёт на воду (на сигналы от водорода). КТ показывает плотность электронов. Оба метода, так или иначе, дают структурные данные об организме. А методы радионуклидной диагностики относятся не к методам структурного исследования, а к методам функционального исследования.

Процесс создания РФП включает ряд самостоятельных этапов:

1. Поиски или синтез химического соединения, фармакокинетика которого в организме животных или человека (распределение во времени по органам и системам, а также выведение) позволяет решить конкретную диагностическую или терапевтическую задачу
2. Выбор радионуклида, обладающего наиболее выгодными ядерно-физическими характеристиками для его детектирования (в диагностике) и минимизация лучевых нагрузок или создания требуемой лечебной дозы (в терапии)
3. Разработка методов введения радионуклида в структуру выбранного химического соединения с формированием желаемой фармакокинетики; контроль достижения цели на этом этапе проводят, как правило, посредством радиохимических методов в сочетании с первичными биологическими испытаниями
4. Разработка состава, технологии и методов контроля лекарственной формы РФП
5. Доклиническое исследование препарата на животных с целью определения его функциональной пригодности и безопасности, определения токсикологических и дозиметрических характеристик будущего РФП
6. Клинические исследования нового РФП, которые разрешаются на основе положительных экспериментальных данных доклинического исследования

Радиофармацевтика – мультидисциплинарная наука.

Радионуклиды для ядерной медицины

По методу получения делятся на следующие типы (хотя материнский радионуклид получают, так или иначе, в реакторе или на ускорителе):

1. Радионуклиды, получаемые в ядерных реакторах:
 - β -излучающие
 - γ -излучающие
 - α -излучающие

2. Радионуклиды, получаемые на ускорителях заряженных частиц
 - β^- -излучающие
 - β^+ -излучающие
 - γ -излучающие
 - α -излучающие
3. Радионуклиды, получаемые (чаще *in situ*) с помощью изотопных генераторов (циклотроны, линейные ускорители)
 - материнский радионуклид получают в реакторе
 - материнский радионуклид получают на ускорителе заряженных частиц

Радионуклидная диагностика

- Планарная сцинтиграфия
- Однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ)
- Позитронная эмиссионная компьютерная томография (ПЭТ)
- Нетомографические методы: ренография, тиреография, объем циркулирующей крови
- *in vitro* методы: радиоиммунный анализ (РИА, ИРМА)

Характеристики оптимального радионуклида для ОФЭКТ:

- моноэнергетическое гамма-излучение
- энергия в пределах 100-200 КэВ
- высокий выход
- небольшая внутренняя конверсия
- период полураспада, сопоставимый с продолжительностью исследования
- по возможности наиболее простой и экономичный способ получения

Предпочтительными видами распада являются изомерный переход (^{99m}Tc) или электронный захват (^{123}I , ^{201}Tl , ^{67}Ga):

- ^{201}Tl в виде однозарядного катиона используется для исследования перфузии миокарда.
- ^{123}I в виде иодид-ионов - при диагностике заболеваний щитовидной железы, а также в виде меченых органических соединений в кардиологии, онкологии и неврологии.
- ^{99m}Tc в составе разнообразных РФП практически универсален в ОФЭКТ диагностике.
- ^{123}I , ^{51}Cr , ^{59}Fe и некоторые другие радионуклиды, не обладающие оптимальными ядерно-физическими характеристиками для ОФЭКТ, используют в нетомографических изотопных исследованиях, например, в гематологии, и для изучения различных обменных процессов методом радиометрии.

Позитронно-эмиссионная томография

Позитронно-эмиссионная томография (двухфотонная эмиссионная томография) - радионуклидный томографический метод исследования внутренних органов человека или животного. Сегодня ПЭТ - наиболее информативный метод радионуклидной диагностики, обеспечивающий пространственное разрешение, возможность измерения абсолютной активности в исследуемом органе, количественную оценку физиологических процессов.

Если в ОФЭКТ важно, какую энергию имеет сам по себе гамма-квант, то в ПЭТ имеет значение, какую энергию имеет испускаемый позитрон. И, как правило, спектр позитронов достаточно широк (это диаграмма распределения). Это природный лимитирующий фактор разрешающей способности позитронно-эмиссионной томографии. Регистрируется аннигиляция позитрона (камера детектирует то место, где произошла аннигиляция). От того, насколько высокая энергия позитрона, зависит, какое расстояние он пройдет в той или иной ткани. При выборе радионуклида для метода ПЭТ отдают предпочтение радионуклидам с наименьшей энергией позитрона.

Радионуклидная терапия: векторы и способы доставки

Радионуклид может быть доставлен к очагу несколькими способами:

1. Ионные формы радионуклидов (selftargetting) за счёт их сродства к той или иной ткани или к тому или иному процессу
2. Небольшие комплексы (мелкие молекулы меченых соединений)
3. Пептидные молекулы (фрагменты гормонов, агонистов или антагонистов рецепторов)
4. Антитела и их фрагменты
5. Крупные структурные РФП на основе нанотрубок, наночастиц

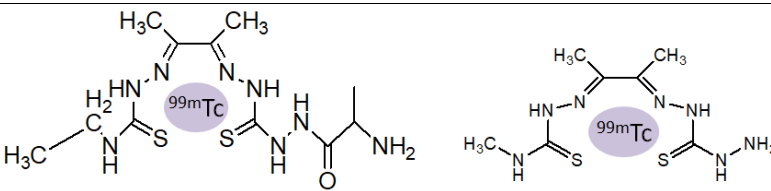
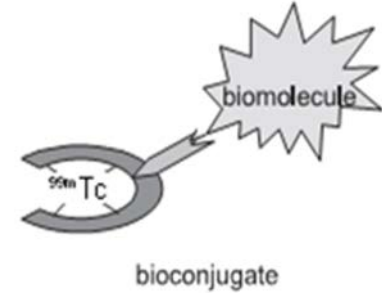
Если уйти от РФП на основе четвёрки «биогенных» радионуклидов, то условно все препараты можно поделить на три поколения:

- простые ионные формы
- небольшие комплексы с липофильными или фосфонатными агентами
- комплексные соединения с биомолекулами (современные радиофармпрепараты, сконструированные под тот или иной процесс).

Производство РФП третьего поколения: к биомолекуле пришивают хелатирующий агент, подходящий для выбранного радионуклида; метят биомолекулу радионуклидом; визуализируют нужный процесс или производят необходимую терапию.

Градации радиофармпрепаратов на поколения довольно условна.

Три поколения РФП с ^{99m}Tc

РФП первого поколения	Ионные соединения	NaTcO_4 (пертехнетат)
РФП второго поколения	Комплексные соединения	
РФП третьего поколения	Комплексные соединения с биомолекулами	

РФП первого поколения

Пертехнетат ^{99m}Tc

TcO_4^- накапливается в щитовидной железе по аналогии с йодом через натрий-йод симпорты.

ПЭТ с ^{68}Ga -цитратом

^{68}Ga -цитрат спустя некоторое время накапливается в очагах инфекционных и асептических воспалений и повреждений скелета. Ga связывается с трансферрином крови (транспортный белок, распределяющий железо) достаточно прочно, и этот комплекс может долго циркулировать в крови, но период полураспада 68 минут слишком мал для того, чтобы дожидаться полного оседания в очаге.

ОФЭКТ с ^{67}Ga -цитратом

Это гамма-излучающий радионуклид с очень длительным периодом полураспада. Поэтому ^{67}Ga успевает связаться с трансферрином, потом из него перейти в место с повышенным содержанием лейкоцитов (воспалительный процесс) или лактоферрина (бактериальная инфекция) или туда, где есть поражение скелета.

^{67}Ga или ^{68}Ga в комплексе с цитратом – РФП первого поколения.

Помимо введения особых элементов в структуру сложных молекул можно модифицировать композицию радиофармпрепарата или саму процедуру. Препараты ^{68}Ga можно применять с предварительным/одновременным введением комплексов $^{\text{nat}}\text{Fe(III)}$ в невысоких концентрациях, не достигающих токсичных эффектов. Тогда трансферрин будет очень быстро связывать железо. Будет происходить блокада

трансферрина железом. За счёт этого на скинтиграмме не будет светиться (фонить) всё кровяное русло, а будет отчётливо виден очаг воспаления.

Поэтому при разработке препарата очень важно знать именно биологическую суть процесса накопления и распределения радионуклида.

ОФЭКТ с ^{123}I

Накапливается в раке щитовидной железе, а также в метастазах этой железы через натрий-йод симпорты. ^{131}I в основном применяется в терапии, но также может быть использован и в диагностике.

Клиническое применение с ^{201}Tl

Применяется в ионной форме, так как этот элемент сложно скомплексовать или ввести в структуру какой-либо молекулы. Если есть нарушения гематоэнцефалического барьера, то просто за счёт перфузии можно визуализировать опухоли и гематомы головного мозга (неселективно и неспецифично). Так же применяется для диагностики перфузии миокарда: в случае патологических изменений (в ишемизированных зонах) нет накопления радионуклида.

Радионуклидные генераторы $^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$

Рубидий также применяется для диагностики перфузии миокарда и опухолей головного мозга

РФП второго поколения

Орто-йодгиппурат (^{123}I) – динамическая ренография

Применяется для ОФЭКТ. В этой форме йода можно визуализировать функцию почек (как работают обе почки или трансплантированная почка, проверить их выделительную функцию).

Сильно липофильные комплексы

8-оксихинолин образует очень липофильные комплексы с большинством металлов (например, ^{111}In). Полученный комплекс (3-оксихинолин на один индий) за счёт своей липофильности может очень легко проникать через мембраны клеток (метить клетки). Какое-то время такой метод был золотым стандартом радионуклидной диагностики инфекционных и асептических воспалений. Кровь пациента центрифугировали, во фракцию лейкоцитов вводили препарат, клетки становились мечеными (для хорошего выхода необходимо держать не менее 60 минут), но оставались живыми. После этого кровь вводили обратно пациенту. Меченые лейкоциты активируются и перемещаются в очаги воспаления. При помощи ОФЭКТ-камеры можно было легко визуализировать места воспаления.

Для использования ПЭТ в этом случае можно просто взять другой радионуклид. Но так как процедура занимает много времени, нужно выбрать радионуклид с подходящим периодом полураспада.

Если правильно подобрать величину липофильности, то можно увидеть головной мозг. Было проведено большое количество попыток разработки такого комплекса технеция, который не задерживался бы в печени за счёт своей высокой липофильности, и в то же время мог бы проникнуть сквозь гематоэнцефалический барьер. Был найден ГМПАО (гексаметиленпропиламинооксим), который образует комплекс с технецием, которым можно метить кровяные клетки. Такой комплекс проникает через гематоэнцефалический барьер и позволяет осуществлять диагностику.

Коллоидная форма

Все металлы, если они претерпят гидролиз достаточно глубоко, могут образовать коллоид сами по себе или их можно нанести на коллоидную частицу. В результате, после их введения в организм за счёт их структурной особенности и размера частиц произойдёт захват некоторых систем клеток. Если правильно ввести эти частицы в лимфатическую систему, то можно увидеть сторожевые лимфоузлы. Препараты с технецием, рением уже существуют. Коллоиды технеция являются хорошими препаратами для диагностики рака молочной железы, так как позволяют увидеть распространения метастаз в сторожевые (защитные, в них идут первые метастазы) лимфоузлы. Этот метод также используют для интраоперационной визуализации. Хирург с использованием специального датчика детектирует повреждённую ткань и делает её резекцию.

Фосфонаты

Фосфонаты занимают особое место среди простых комплексов, так как имеют высокое сродство к костному матриксу. Это важно, потому что большое количество злокачественных опухолевых процессов метастазирует в скелет. Посмотреть распространённость этих метастаз позволяет скинтиграфия скелета с использованием ^{99m}Tc -метилendifосфоната. Получается очень чёткое изображение. Фосфонаты очень быстро накапливаются в очагах поражения скелета.

Лекция 7. Радиофармпрепараты третьего поколения

Ioflupane (^{123}I)

DAT - dopamine transporter – транспортный белок в мозге, осуществляющий транспорт дофамина в мозг. Молекула Ioflupane ^{123}I (Рисунок 35) очень селективна. Она связывается с белком DAT, являясь, по сути, его ингибитором, и позволяет визуализировать места в мозге с высокой плотностью дофаминовых транспортеров. По состоянию чёрной субстанции можно судить о наличии или отсутствии болезни Паркинсона

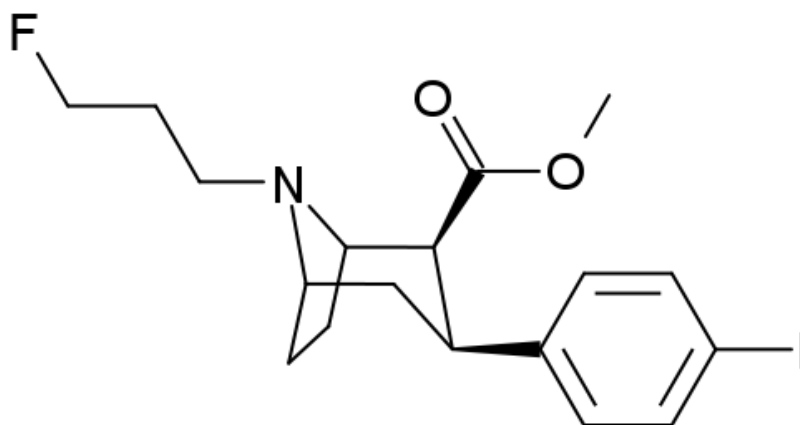


Рисунок 35. Молекула Ioflupane ^{123}I

Так же используют аналоги с ^{18}F : [^{18}F]F-DOPA. Отличие лишь в механизме накопления. Сам дофамин не может проходить через гематоэнцефалический барьер, а молекула [^{18}F]F-DOPA может.

Создание современных препаратов для ПЭТ/ОФЭКТ

РФЛП 3-го поколения: рецептор-специфичные биоконъюгаты. Их создают на основе радионуклидов металлов или "вне химии ^{18}F ".

РФЛП 3-го поколения включает в себя:

- Радионуклид (позитрон-/гамма-/бета-излучающий)
- БХА – бифункциональный хелатирующий агент – связывает радионуклид и содержит свободные центры для дальнейшего связывания (DOTA, NODAGA, DTPA и др.)
- Линкер
- Вектор: рецептор-специфичные пептиды и другие лиганды (позволяет всей конструкции РФП накапливаться в нужном месте)

Выбор лиганда-вектора

В основном, препараты 3 поколения специфичны к тому или иному типу рецепторов. Большинство патологических процессов характеризуется сверхэкспрессией рецепторов на поверхности клеток.

Бифункциональный хелатирующий агент связывают с биологическим вектором (короткий пептид, аналог гормона или моноклональное антитело (самый специфичный вектор)) и метят его радионуклидом (диагностическим или терапевтическим).

Пример 1: сверхэкспрессия соматостатиновых рецепторов на мембранах клеток нейроэндокринных опухолей

Нейроэндокринные опухоли характеризуются высокой плотностью соматостатиновых рецепторов. Соматостатин – гормон, имеющий высокое сродство к этим рецепторам. Соматостатин имеет период полувыведения (существования в кровяном русле) – 4 минуты. Этого времени не достаточно для проведения диагностики.

Фармакофор рецептора – набор стерических характеристик (заряд, липофильность, количество водородных связей и их форма), которые позволяют описать лиганд для этого рецептора. По сути, это описание ключа, который подойдет к этому замку.

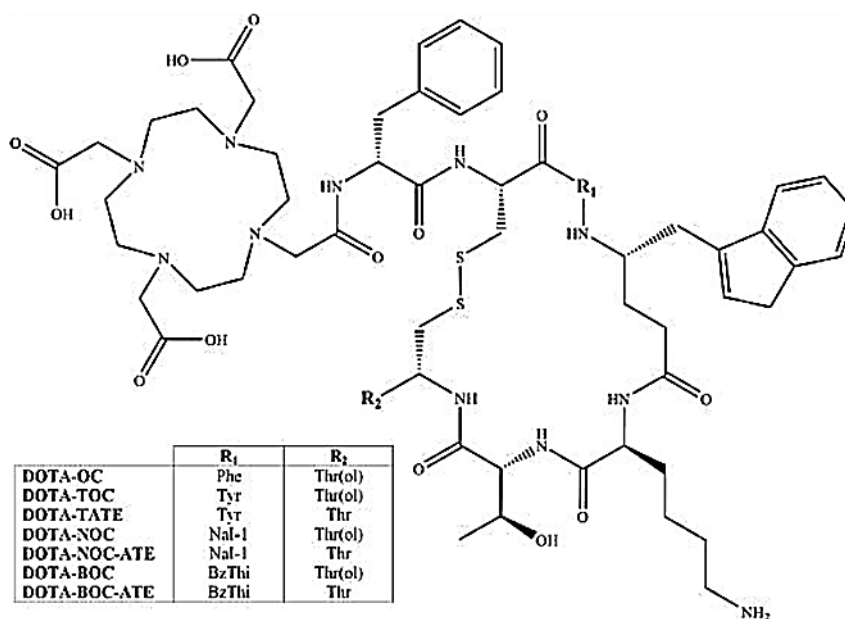


Рисунок 36. Молекула октреотида в комплексе с ДОТА.

Из соматостатина была выделена ключевая аминокислотная последовательность и получена молекула октреотид, которая существует в кровяном русле больше 4 часов. Для получения РФП 3 поколения к октреотиду пришивают БХА ДОТА (Рисунок 36).

Аналоги соматостатина: DOTA-TOC, DOTA-TATE, DOTA-NOC – РФП с ^{68}Ga , применяемые для диагностики нейроэндокринных опухолей.

^{68}Ga -DOTA-TOC^a активнее всего связывается с соматостатиновыми рецепторами 5 типа, ^{68}Ga -DOTA-TATE^a – с рецепторами 2 типа. А ^{68}Ga -DOTA-NOC^b хорошо связывается с рецепторами 2, 3 и 5 типов, поэтому эффективность накопления в опухолевых центрах таких препаратов намного выше.

Помимо этого, нейроэндокринные опухоли не характеризуются очень высоким ростом и потреблением глюкозы, поэтому неспецифичные препараты фтордезоксиглюкозы не позволяют визуализировать такие опухоли.

Не обязательно использовать в качестве векторов антагонистов рецепторов (октреотид является антагонистом). Можно брать агонистов этих рецепторов. Агонист соматостатиновых рецепторов ^{68}Ga -NODAGA-JR11 визуализирует большее количество метастатических очагов в организме пациента, чем ^{68}Ga -DOTA-TOC. При выборе векторных молекул нужно руководствоваться тем, чтобы молекула и эффективно связывалась, и долго удерживалась.

Для всех пептидных препаратов почки являются критическим органом. Поэтому когда пациент приходит на пептидную рецепторную радиотерапию, в первую очередь проверяют, здоровы ли его почки. Если почки не здоровы, то необходимо провести их лечение. Для уменьшения накопления РФП в почках пациенту вводят дополнительные вещества (например, лизин).

Пример 2: сверх экспрессия глутаматкарбоксипептидазы II (GCPPII) на клетках опухоли предстательной железы

Опухоли предстательной железы характеризуются своим типом рецепторов PSMA (простат-специфический мембранный антиген), которые имеют несколько характерных очагов связывания:

- внеклеточный «карман», к которому по принципу ключ-замок подходят небольшие фрагменты молекулы
- внеклеточный, связывающийся с антителом
- внутриклеточный (тоже может связываться с антителом).

Антитело 7E11 было разработано и применено для диагностики рака предстательной железы одним из первых. Но поскольку оно связывается с внутриклеточным центром, то визуализировать это возможно только на стадии некроза опухоли (когда нарушена целостность мембраны). Некроз опухоли – достаточно длительный процесс, так как далеко не каждый очаг несёт в себе некротические агенты. Поэтому визуализация затруднена.

Если использовать антитело, которое связывается с внеклеточным центром, то визуализация будет возможна только на отложенных сроках.

Недостаток моноклональных антител: они очень долго циркулируют в кровяном русле (для накопления в очаге необходим срок больше суток). Поэтому нужно подбирать достаточно долгоживущий радионуклид, что не всегда просто.

Были обнаружены небольшие молекулы ^{68}Ga -PSMA-11, специфично связывающиеся с «карманом» и позволяющие чётко визуализировать накопление метки.

Выбор радионуклида

Важна доступность радионуклида, метод его получения и его период полураспада.

Сейчас ведутся работы с самыми разнообразными радионуклидами.

Если сравнивать радионуклиды исключительно по их ядерно-физическим свойствам, то важную роль будет играть разрешающая способность, которая может быть достигнута с тем или иным радионуклидом. Для исследования разрешающей способности используют Dorenzo Phantom – специальную плашку с гнёздами разного диаметра, в которую наливают раствор изучаемого радионуклида. На ПЭТ-камере смотрят границу размера этих отверстий, когда можно различить, что это отдельные фрагменты. Наиболее чёткие изображения из всех используемых на сегодняшний день радионуклидов для ПЭТ даёт ^{18}F , который имеет наименьшую среднюю энергию испускаемых позитронов. За ним идут ^{64}Cu , ^{11}C , ^{89}Zr , ^{68}Ga .

Тераностика = терапия + диагностика.

Тераностическая пара радионуклидов включает диагностический и терапевтический. Пример: ^{64}Cu и ^{67}Cu .

Радионуклиды тербия – «швейцарский нож» ядерной медицины, так как элемент содержит все возможные радионуклиды (α -, β -, γ - и позитрон-излучающие). Но получить его очень трудно и придётся долго облучать.

При выборе радионуклида нужно учитывать метод его введения. В случае с радионуклидами металлов, используют хорошие БХА для прочного связывания.

Йодом пометить моноклональное антитело легко, но в организме йод легко начинает диссоциировать.

Ядерно-физические свойства радионуклида не являются единственным параметром выбора. Сам по себе радионуклид способен влиять на биологическое поведение конечного конъюгата, несмотря на свой маленький размер относительно целого РФП.

У каждого металла своя координационная сфера. То, какую стерическую форму образует комплекс, зависит от самого радионуклида.

Если у радионуклида нет истинной тераностической пары, можно по величине аффинности с различными радионуклидами подобрать комплементарную по накоплению пару (для ^{68}Ga – ^{90}Y или ^{177}Lu), чтобы эффективно производить терапию тех или иных патологических очагов.

У альфа-излучающих радионуклидов линейная передача энергии самая эффективная.

IC_{50} – концентрация полумаксимального ингибирования – та концентрация нашей молекулы, при которой будет блокирована половина рецепторов в субстрате. Эта величина очень сильно зависит от температуры, времени контакта и чистоты используемых реактивов, поэтому от исследования к исследованию она может меняться. Но если в рамках одного исследования выполняется сравнение, то это достаточно наглядный показатель аффинности нашей молекулы к тому или иному рецептору. IC_{50} не является непосредственно величиной аффинности (существует уравнение пересчёта в константу аффинности).

Величина IC_{50} для некоторых радионуклидов в комплексе с DOTA-JR11

Радионуклид	IC_{50} (nmol/L)
-	0.72 ± 0.12
Ga(III)	29 ± 2.7
Cu(II)	16 ± 1.2
In(III)	3.8 ± 0.7
Lu(III)	0.7 ± 0.15
Y(III)	0.47 ± 0.05

Влияние линкера

Линкерами начали заниматься совсем недавно. Их стали изменять в молекулах в коммерческих целях.

Меняя только линкер, можно как повышать накопление в самом опухолевом очаге, так и сводить его на нет (при том, что векторная молекула и радионуклид остаются теми же самыми).

Выбор и влияние хелатирующего агента

Хелатирующий агент тоже влияет на фармакокинетику (биораспределение), несмотря на то, что находится ещё дальше, чем линкер.

Соединение	IC ₅₀ (nmol/L)
⁶⁸ Ga-DOTA-JR11	29.0±2.7
⁶⁸ Ga-NODAGA-JR11	1.2±0.2
⁶⁸ Ga-DOTA-TATE	0.2±0.05

HBED-CC – специфический хелатирующий агент, который связывается только с галлием. Реакция идёт очень быстро и даже при комнатной температуре, но подходит только для галлия.

Последнее слово в радиофармацевтической химии всегда остаётся за клиническими исследованиями.

При выборе состава РФП нужно помнить, что важна гармония всех показателей: умеренная липофильность, быстрое выведение из организма, отсутствие засвета критических органов и сохранение аффинности (достаточно высокой, но не обязательно самой лучшей).

Другие способы модификации молекулы РФП

Возможно введение дополнительных групп, модифицирующих фармакокинетику.

Мультимеризация вектора

Химия позволяет нахождение 2 или 3 векторных молекул. С увеличением числе ферментных остатков вектора может расти величина накопления препарата в опухолевом центре (но может возрасть и накопление в почках).

Гистидин-глицин

Введение последовательностей гистидин-глицин позволяет снизить накопление в почках, повышая при этом накопление в опухолевых центрах.

Визуализация фолат-положительных опухолей

Если экскреция очень быстрая, то молекулу нужно удерживать в кровяном русле. Путём генетических исследований транспортных белков был выделен фрагмент, который связывается с альбумином (транспортный белок крови). За счёт этого почти в 4 раза повышается время циркулирования в плазме крови. Альбумин может отделяться от препарата, поэтому при каждом следующем прохождении крови мимо опухолевого центра, накопление там будет всё больше.

Относительно разработки новых РФП:

Проводимые в мире исследования по разработке новых РФП и их сравнению крайне важны, но имеют значение лишь при условии, что полученные данные будут положены в основу будущих разработок.

Принципы работы «с тем, что есть», «изменена одна аминокислота в последовательности, такого ещё не описано» и «зато не попадает под патент» сильно тормозят прогресс и снижают реальную научную ценность самого исследования.

Окончательный ответ о пригодности того или иного РФП, а также превосходство одного аналога над другим могут дать только серьёзные мультицентровые клинические исследования.

Основная лимитирующая стадия внедрения новых РФП: кому по карману такие исследования? Врачи физически не успевают дать адекватную оценку во всё увеличивающемся многообразии РФП в рамках одного класса.

Лекция 8. Контроль качества РФП

Радиофармацевтическая химия ^{99m}Tc

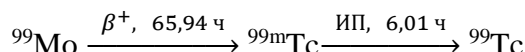
Технеций - искусственный радиоактивный элемент, не имеющий стабильных изотопов (известно более 20 радиоактивных изотопов с $T_{1/2} > 1$ мин). Отсутствие у него стабильных изотопов объясняется правилом запрета Маттауха–Щукарева.

Правило Маттауха–Щукарева: в природе не могут существовать два стабильных изобара, заряды ядра которых отличаются на единицу. Другими словами, если у какого-либо химического элемента есть устойчивый изотоп, то его ближайшие соседи по таблице не могут иметь устойчивых изотопов с тем же массовым числом.

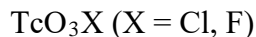
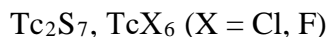
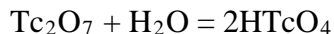
Химия технеция:

- Тс: $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^2 4p^6 4d^5 5s^1$
- Возможные степени окисления: от +7 до -1
- Склонность к диспропорционированию, образованию кластерных соединений и комплексообразованию (к.ч. от 4 до 9)
- Наиболее устойчивая степень окисления +7

Технеций получают из генератора в форме пертехнетата натрия.



Химия Тс(VII):



HTcO_4 – сильная кислота

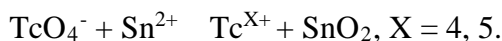
TcO_4^- абсолютно устойчив в отсутствие восстановителей

РФП с ^{99m}Tc

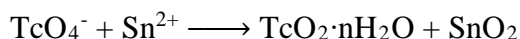
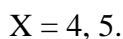
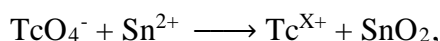
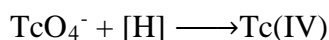
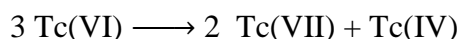
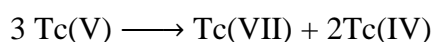
Химия РФП на основе ^{99m}Tc начинается с водного раствора $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, в форме которого ^{99m}Tc элюируется из генератора. Ион $^{99m}\text{TcO}_4^-$ заряжен отрицательно, и эффективных методов присоединения его к органическим молекулам не существует. Таким образом, необходимо восстановить семивалентный ^{99m}Tc до более низкой степени окисления, чтобы создать стабильный комплекс с пептидом.

Как правило, для получения РФП с ^{99m}Tc используют два методических подхода. Первый – это одностадийная реакция, в которой полученный из генератора элюат добавляют во флакон с соответствующим лигандом/ами и восстанавливающим агентом. После этого сосуд выдерживают при комнатной или повышенной температуре необходимое количество времени. Другой подход состоит в первоначальном восстановлении $^{99m}\text{TcO}_4^-$ в присутствии слабого лиганда, который только

стабилизирует технеций в необходимой степени окисления, а затем этот промежуточный комплекс вводят во взаимодействие с «сильными» лигандами. В результате образуется термодинамически стабильный комплекс Тс в заданной степени окисления. Такой процесс называют «трансхелатированием» или «обменным мечением». Этот вариант получения РФП менее удобен для использования в клинических условиях, но иногда является единственно возможным, например, в случае мечения с помощью трикарбонилтехнеция.



Химия технеция в ОВР:



В радиохимии технеций содержится в веществах в степени окисления 5-6. Диспропорционирования (с образованием степени окисления 4 и ГВТ) не происходит, так как работа идёт в пикомолярных, а не весовых количествах. Из-за этого вероятность сталкивания и протекания реакции диспропорционирования очень мала.

ГВТ – гидролизированный восстановленный технеций.

Восстановление пертехнетата $^{99\text{m}}\text{Tc}$

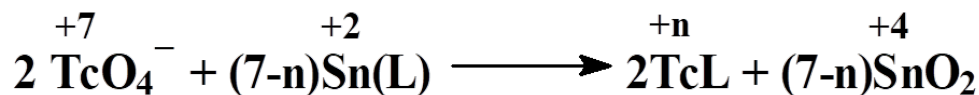
Пертехнетат практически невозможно ввести в структуру какой-либо молекулы, так как это очень маленький ион. Поэтому его необходимо восстановить. Существует два подхода к восстановлению:

- использование промежуточного лиганда (как правило, с большим количеством гидросульфидных групп)

Природа лиганда определяет получаемое валентное состояние $^{99\text{m}}\text{Tc}$, а процесс восстановления может протекать ступенчато. Лиганд выполняет функции восстановителя и комплексообразующего агента (например, сульфгидрильные

соединения). Стадии восстановления и комплексообразования разделены во времени.

Промежуточный лиганд сначала восстанавливает ^{99m}Tc , задерживает его в слабом комплексе (этот комплекс устойчив, но легко вступает в реакцию обмена лигандов). Затем этот комплекс взаимодействует с ключевой молекулой (целевым лигандом), и технеций перехелатируется в необходимую химическую форму.



Двухступенчатую реакцию неудобно применять в клинических исследованиях.

- использование дихлорида (или дифторида) олова – основной метод, используемый в клинической практике (Рисунок 37).

Проблема заключается в том, что восстановленный технеций может сам по себе гидролизаться, если в препарате не окажется молекулы, с которой получаем РФП. Поэтому работать с соединениями технеция приходится очень быстро.

Ещё одно требование: безвоздушная среда. Как только появляется растворённый кислород, сразу начинаются конкурентные реакции. Температура, освещённость, примеси газов, микрочастицы также являются важными факторами, определяющими процесс восстановления.

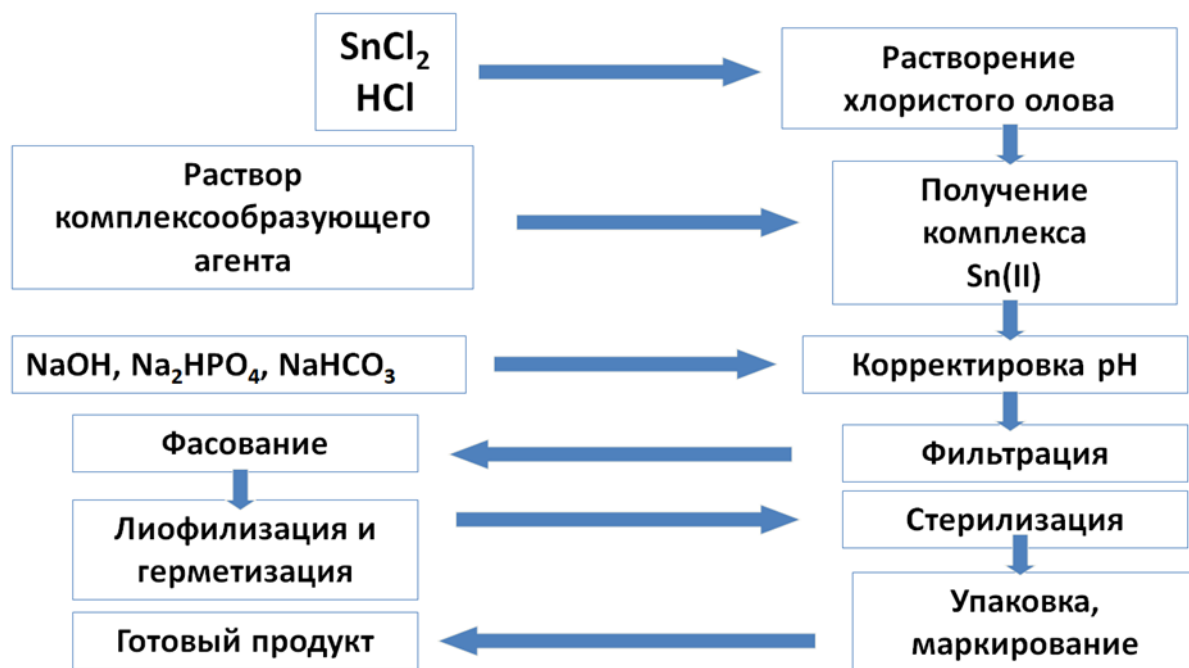


Рисунок 37. Схема восстановления пертехнетата с использованием дихлорида олова.

Перед приготовлением раствора HCl её продувают озоном или аргоном для вытеснения всех растворённых газов. При помощи 0,1 М лимонной кислоты проводят гидролиз олова с образованием промежуточного комплекса. При использовании такого подхода наблюдают более высокие выходы реакции восстановления.

Ключевая разница в процессах приготовления препаратов в галлии и технеции заключается в том, что галлий получают из генератора в растворе 0,1М HCl в форме катиона, готового к дальнейшему комплексообразованию, а технеций получают в форме пертехнетата, который не вступает в реакцию мечения. Лиофилизаторы для синтеза РФП с технецием всегда содержат восстановитель

РФП с технецием делятся на препараты трёх поколений:

1. Ионные соединения: пертехнетат (накапливается в щитовидной железе по аналогии с йодом, но оказывает меньшую дозовую нагрузку на пациента)
2. Простые комплексные соединения – большинство применяемых на сегодняшний день препаратов (фосфанатные комплексы; мечение клеток и диагностика заболеваний головного мозга)
3. Комплексные соединения с биомолекулами

Хелатирующие агенты для технеция: гидразин-никотиновая кислота и меркапто-ацетил-триглицерид. В случае с хелатом HYNIC необходимо использовать солиганды, чтобы занять оставшиеся координационные сферы технеция. В качестве солигандов для технеция чаще всего используют ЭДДА и трицин. Но они могут скомплексовать технеций до конца, поэтому необходимо контролировать отсутствие промежуточных продуктов.

Введение интермедиаторов необходимо в случае, когда реакция комплексообразования протекает медленнее, чем гидролиз восстановленного технеция. Одним из наиболее часто используемых интермедиаторов является глюкогептанат натрия.

Единственный раз удалось ввести семивалентный технеций в структуру биомолекулы (профессор Vraband) в 2014 году. Но с тех пор никто больше этим не занимался, так как большинство учёных переключились на химию других соединений.

Контроль качества РФ(Л)П

Пути наработки РФП:

- *Производство* (централизованное изготовление готовых препаратов, фасовка и доставка в различные медицинские учреждения) - препарат должен быть зарегистрирован, иметь всю необходимую н.д. (ФСП, регламент, акты наработки, протоколы анализа) - GMP

- *Изготовление* на месте применения – препараты, изготавливаемые непосредственно в клиническом учреждении для применения *in situ* государственной регистрации не подлежат. Тут встаёт вопрос контроля качества

GMP – Good Manufacturing Practice

В мировой фармацевтической практике одним из важнейших документов, определяющих требования к производству и контролю качества лекарственных средств (ЛС) для человека и животных, являются "Правила производства лекарственных средств" - "Good Manufacturing Practice for Medicinal Products (GMP)".

Во всех развитых странах мира поставки и использование ЛС, произведённых вне системы GMP, являются незаконными.

По правилам GMP помещение, в котором производятся РФП, должно находиться под повышенным давлением, чтобы при открытии двери грязь из коридора не попадала внутрь. А по нормам радиационной безопасности во всех радиохимических шкафах должно присутствовать разрежение. Поэтому создают каскад давлений.

Воздух в лабораториях очень сухой после очистки. Сотрудники надевают специальную одежду, которая не пылит. Существуют специальные передаточные окна для переноса флаконов в другие помещения тоже с каскадом давлений. Качественное выполнение работ (на современном уровне) – залог успешного синтеза РФП с любым радионуклидом.

Государственная фармакопея содержит описания всех РФП, методы их применения и контроля и нормирование всех возможных примесей.

Задержка в медицинской помощи часто происходит из-за того, что в разных странах по-разному нормируют чистоту РФП и другие параметры.

Контроль качества включает контроль:

- содержания всех неактивных компонентов
- pH
- осмолярности (если ввести гипотоничный раствор, то клетка разбухает или разрывается; а если гипертоничный, то происходит сжатие клеток)
- объёмной активности (она должна быть достаточной для визуализации)
- радиохимической чистоты
- радионуклидную чистоту
- подлинность по радионуклиду
- стерильность
- апиrogenность (наличие продуктов жизнедеятельности бактерий)

Подлинность по радионуклиду и радионуклидную чистоту контролируют при помощи гамма-спектрометрии или определения приблизительного периода полураспада (для чистых бета-излучателей – слой половинного ослабления).

Радиохимическая чистота - это отношение активности радионуклида в основном химическом веществе, составляющем препарат, к общей активности радионуклида в этом препарате, выраженная в процентах (доля радионуклида, присутствующего в препарате в нужной химической форме).

Контроль радиохимической чистоты осуществляется разными методами разделения химических форм:

- ТСХ
- ВЭЖХ
- Экстракция
- Электрофорез
- Комбинация этих методов.

Измерение уровня pH: потенциометрия не подходит, лучше использовать индикатор. На сегодняшний день существуют такие индикаторные полоски с погрешностью, допустимой для требуемых границ pH.

«Альтернативные методы анализа могут быть использованы всегда» - формулировка из фармакопей.

Существуют альтернативные тесты на наличие примесей Al^{3+} и на наличие невосстановленных пертехнетат-ионов.

На сегодняшний день существуют компании, которые выпускают готовые растворы и индикаторные полоски для проведения анализа радиохимической чистоты препарата.

Для некоторых препаратов необходимо применить 3 метода анализа. Приходится использовать классические методы в комбинации с альтернативными. Как правило, таких случаев очень мало. Чаще всего вопрос чистоты оптических изомеров возникает при изготовлении препаратов с фтором.

Возможны провалы при контроле качества. Даже когда исследователь чётко следует аттестованной методике. Бывает, что производитель полосок может изменить что-то в производстве, и это повлияет на результат.

Галлий (скандий, лютеций, иттрий) в растворе РФП может присутствовать в трёх формах:

- связанная форма
- коллоидная форма (согласно фармакопей должно быть max 3%)
- свободная форма (согласно фармакопей должно быть max 2%)

Для анализа препаратов галлия (определения содержания коллоидного гидролизованного галлия) фармакопея предлагает комбинацию двух методов: ТСХ (силикагель или iTLC 1М ацетате аммония в среде вода:этанол 1:1) и ВЭЖХ. Коллоид остаётся на старте, препарат движется с фронтом. Это не всегда оказывается так. А методом ВЭЖХ можно увидеть только ионные формы.

В Европе производители оборудования настаивают на том, что для этих соединений должен был применён метод ВЭЖХ. Но метод недостаточен в случаях с коллоидами металлов.

С ростом pH разница между результатами ТСХ и ВЭЖХ увеличивается.

Срок годности РФП

№	Срок годности	Периодичность проверки качества
1	До 40 минут включительно	На время изготовления
2	Свыше 40 минут до 5 суток включительно	На время изготовления и конец срока годности
3	Свыше 5 суток до 10 суток включительно	На дату изготовления и конец срока годности
4	Свыше 10 суток	На дату изготовления в середине и в конце срока годности

Газовая хроматография позволяет определять остаточные органические растворители.

Тесты на пирогены и бактериальные эндотоксины не относятся к радиохимии, но очень важны в контроле качества РФП. Раньше проводили тесты на кроликах: вводили им препарат, а затем измеряли температуру. Держать кроликов очень трудоёмко, поэтому был разработан другой тест. ЛАЛ-тест использует лизат-амёбоцитов из крови мечехвоста. Их кровь сворачивается при контакте с эндотоксинами определённой концентрации. Но существуют такие препараты, которые сами по себе являются пирогенными.

Тест на стерильность для исключения бактериальной контаминации: метод прямого посева на чашки Петри с выдерживанием в течение 7-14 дней. Фармакопея разрешает выпуск препарата до окончания теста на стерильность. И в случае провала теста заново проверяют всю линейку производства РФП. При этом вероятность летального заражения пациента очень мала.

Лекция 9. Радионуклидная терапия

Обнаружить и визуализировать опухоль не достаточно, необходимо её вылечить.

Кюритерапия – первое применение радия в медицине, когда ампулы с радием прикладывались к коже пациента.

Основные параметры:

- мишень (определение очагов патологического процесса)
- вектор (способ доставки)
- радионуклид

Радионуклиды по типу излучения: альфа-излучающие (эффективнее) или бета-излучающие. Альфа-излучающие радионуклиды пробегают расстояние в одну клетку и могут вызывать двуцепочечные разрывы ДНК, а бета-излучающие пробегают расстояние в несколько клеток и вызывают одноцепочечные разрывы ДНК, которые могут репарироваться.

Но у всех альфа-излучателей много нестабильных дочерних радионуклидов, которые вносят свой вклад и в дозиметрию, и в распределение по организму. Методы выделения альфа-излучателей гораздо более трудоёмкие.

Гамма-нож – удобный инструмент воздействия на опухолевые очаги, особенно в головном мозге (так как при статичном положении головы мозг не шевелится, в отличие от органов грудной или брюшной полости).

Протонная терапия – использование специального циклотрона, вращающегося вокруг пациента. Очень дорогостояще.

Брахитерапия – новое название кюритерапии – терапия закрытыми источниками. Имеет опосредованное отношение радиофармацевтической химии. Используется металлическая закрытая капсула: ^{188}Re , ^{90}Y , ^{192}Ir (бета-эмиттеры). Самая обширно применяемая брахитерапия – терапия предстательной железы. В ткань предстательной железы вводят маленькие капсулы, которые там и остаются. Ещё одно уникальное применение аппликационной терапии: лечение опухоли глаза. До появления офтальмоаппликаторов терапия заключалась в удалении глазного яблока, что сильно ухудшало качество жизни. Теперь в этом не необходимости.

^{252}Cf – нейтрон-излучатель. 1г ^{252}Cf калифорния в среднем стоит 250-270млн долларов, так как суммарные его запасы на Земле составляют всего 8г. Один аппликатор можно применить на нескольких пациентах. У него очень высокий коэффициент размножения нейтронов.

Истинная эндорадиотерапия

Эндорадиотерапия основывается на применении радиофармацевтических препаратов трёх поколений.

При использовании иоонных форм или малых комплексов можно заменить диагностический радионуклид на его тераностическую пару и получить терапевтический препарат.

^{67}Cu обладает очень хорошими характеристиками для ядерной терапии.

Рассмотрим некоторые тераностические пары:

I: ^{124}I для ПЭТ, ^{123}I для ОФЭКТ, ^{131}I для РНТ (радионуклидной терапии).

^{68}Ga для ПЭТ, ^{67}Ga для ОФЭКТ, для Ga невозможно применение в терапии.

Способы доставки терапевтического радионуклида к очагу воспаления не отличаются от способов доставки диагностического радионуклида:

1. Ионные формы радионуклидов (selftargeting) за счёт их сродства к той или иной ткани или к тому или иному процессу
2. Небольшие комплексы (мелкие молекулы меченых соединений)
3. Пептидные молекулы (фрагменты гормонов, агонистов или антагонистов рецепторов)
4. Антитела и их фрагменты
5. Крупные структурные РФП на основе нанотрубок, наночастиц

Терапевтические РФП 1 поколения

^{131}I доставляется в ионной форме, позволяет производить терапию рака щитовидной железы. ^{123}I можно использовать с ним в паре для диагностики.

Получение ^{123}I

^{123}I благодаря его химическим и ядерно-физическим характеристикам можно считать идеальным для диагностических ОФЭКТ-процедур. Для получения ^{123}I можно использовать несколько ядерных реакций, общим недостатком которых является высокая цена радионуклида. Для коммерческого получения ^{123}I используют «генераторные» методы, то есть в результате ядерной реакции образуется радионуклид, который распадается с образованием ^{123}I .

Облучение ксенона и накопления проводят в одной и той же камере, после чего ксенон удаляют из камеры и поглощают в ловушке (-196°C). ^{123}I смывают со стенок аммиачным водным раствором, содержащим гидроксиламин, поглощают на анионообменной колонке и элюируют водным раствором щёлочи.

^{89}Sr – бета-излучатель, применяемый в ионной форме – прямой аналог кальция в организме, накапливается в местах повреждения скелета.

Лечение поражения скелета в большинстве своём палиативное. Бета-частицы не дают опухолевым очагам разрастаться, тем самым купируя болевой синдром.

^{223}Ra – альфа-излучатель, также применяемый в ионной форме – тоже является аналогом кальция в организме, накапливается в местах повреждения скелета. За счёт альфа-излучения эффективность терапии гораздо выше. Изготавливать препараты 2 и 3 поколения с ^{223}Ra нет смысла, так как нет подходящих хелатирующих агентов для радия (поэтому ^{223}Ra используют только в качестве остеотропного радионуклида).

Терапевтические РФП 2 поколения

^{131}I -МИБГ – метайодбензилгуанидин – единственный РФП, одобренный для лечения опухолей, в частности, миобластом, у детей.

Получение РФП с ^{123}I

Примерами других широко применяемых РФП с радионуклидами йода являются ^{123}I -жирные кислоты (для исследования метаболизма миокарда), ^{123}I -МИБГ – метайодбензилгуанидин (перфузия миокарда, диагностика состояния адренорецепторов) и ^{131}I -МИБГ (опухоли надпочечников). В последние годы синтезировано большое количество новых рецептор-связывающих РФП, меченых ^{131}I .

Существует два главных метода введения радионуклидов йода в органические молекулы:

- электрофильное радиоiodирование (основан на взаимодействии активированных соединений, таких как фенолы, анилины, элементоорганические соединения с реагентами, содержащими радиойод)
- изотопный обмен йода (состоит в нуклеофильного обмене йода йодорганических соединений на радиоизотопы йода при действии радиойодида натрия). Применяется для получения РФП как алифатического, так и ароматического ряда.
 - В алифатическом ряду обмен осуществляется путем мягкого нагревания смеси реагентов в ацетоновом или спиртовом растворах (например, при получении меченых йодалифатических кислот).
 - В ароматическом ряду реакция нуклеофильного изотопного обмена йода идёт, как правило, только в жёстких условиях (при нагревании в высококипящих растворителях или в расплаве), когда весьма заметным становится разложение органических веществ.

Исключением является обмен йода в альфа-йодбензойной кислоте и её производных. Эти реакции протекают в относительно мягких условиях (80-100°C) и служат основой широко применяемого метода получения РФС ^{131}I (^{123}I)-йодгиппурата натрия.

Бисфосфонаты – копятся в очагах метастатического поражения скелета, позволяют производить их физиализацию и терапию.

^{153}Sm -EDTMP – самарий-оксобифор

Так как у этого РФП есть своя гамма-линия, можно контролировать его накопление в очагах воспаления.

^{188}Re -РНТ – коллоидная форма радионуклида.

1. Синорен, ^{188}Re – РНТ на основе суспензии диоксида олова для радионуклидной терапии ревматических заболеваний.
Результаты изучения терапевтического действия РФП «Синорен, ^{188}Re » у животных с острым асептическим синовитом наглядно демонстрируют увеличение доли опорной функции пораженной конечности у животных, получавших лечение от практически полного отказа от использования лапы до введения РФП до результатов, достоверно не отличающихся от контрольных цифр на седьмые сутки
2. РФП на основе микросфер альбумина 5-10 мкм с рением-188 для лечения резистентных синовитов
3. «Фосфорен, ^{188}Re ». Состав: SnCl_2 , аскорбиновая кислота, ОЭДФ и NaReO_4 .

Контроль качества

Содержание радиохимических примесей (РХП) определяют методом бумажной хроматографии.

Система А (ватман 1 – ацетон) – определение свободного перрената

Система Б (ватман 1 – 0,9% NaCl) – определение ГВР

Существуют РФП, которые нельзя отнести ни к 1, ни ко 2 типу. Это РФП для внутриартериального введения для терапии гепатоцеллюлярной карциномы.

РФП для внутриартериальной РНТ

$^{188}\text{Re-HDD}$ /липиодол – вводится с печёночную артерию, накапливается в очагах рака печени. Из печени этот препарат никуда не мигрирует, таким образом происходит терапия

$^{188}\text{Re-S55}$ /липиодол – ещё один вариант препарата-эмульсии.

Не всегда терапевтические РФП применяются для полного устранения опухолевого процесса. Зачастую препарат вводится для уменьшения объёма опухоли или для того, чтобы она стала операбельна.

Существуют РФП, вводимые интратуморально, то есть прямо в опухоль (Иногда применяются на опухолях головного мозга).



ХИМИЧЕСКИЙ
ФАКУЛЬТЕТ
МГУ ИМЕНИ
М.В. ЛОМОНОСОВА



teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

