

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

ИНТЕГРИСАНЕ АКАДЕМСКЕ СТУДИЈЕ ФАРМАЦИЈЕ

И22 - Радиофармација

Радиофармацеутици и методе радиообележавања

Друга недеља наставе

Радиофармацеутици

- Радиофармацеутици подразумевају радиоактивна једињења или елементе који првенствено користе у дијагностичке сврхе (95%), а мање у терапијске (5%).
- Радиофармацеутици који се користе у дијагностици углавном немају фармаколошко дејство, јер се у организам уносе у траговима (у малим количинама).
- Радиофармацеутици могу да се састоје од:
 - једне компоненте (само радионуклида, нпр. ^{131}I)
 - две компоненте (радионуклида и фармацеутика; хумани албумин обележен ^{131}I).

Радиофармацеутици

-фармацеутски облик

- Радиофармацеутици се убрајају у лекове, а према фармацеутском облику разликују се:
 - прави раствори,
 - колоиди,
 - суспензије,
 - капсуле,
 - радиоактивни гасови.

Радиофармацеутици

-начин примене

- Радиофармацеутици се према начину примене деле на:
 - пероралне,
 - интравенске,
 - интрамускуларне,
 - субкутане,
 - инхалационе.
- Начин примене зависи од дијагностичког циља и од физичко-хемијских особина радиоизотопа.
- За разлику од радиолиганда, радиофармацеутици подлежу контроли квалитета као и конвенционални лекови.

Радиофармацеутици

-захтеви

- Основни захтеви које радиофармацеутик намењен за хуману *in vivo* примену треба да испуни су:
 - нетоксичност,
 - апирогеност (уколико се примењује парентерално),
 - стерилност (уколико се примењује парентерално),
 - оптимална рН вредност,
 - изотоночност,
 - чистоћа (раднуклида, радиохемијска и хемијска).

Радиофармацеутици

-дизајн

- У дизајну радиофармацеутика, најпре се одабере фармацеутик на основу локализације рецептора у одређеном органу или физиолошке функције органа.
- Затим се одговарајућим радионуклидом обележи одабрани фармацеутик, тако добијен радиофармацеутик након примене емитују зрачења које се детектује детектором зрачења.
- Припрема треба да буде:
 - једноставна,
 - поновљива и
 - да не мења жељену особину обележеног једињења (радиофармацеутика).

Радиофармацеутици

-дизајн

- Да би се радиофармацеутик успешно формулисао потребно је одржавати оптималну температуру, pH вредност, јонску јачину и моларне односе.
- Након што се радиофармацеутик дизајнира и формулише, процењује се његова ефикасност, најпре на животињама, а потом и на људима.
- Његовом применом је могуће извршити процену морфолошких структура или физиолошку функцију органа.

Радиофармацеутици

-карактеристике

- Одабрани фармацеутик треба да буде безбедан и нетоксичан за хуману употребу.
- Зрачење које емитује одабрани радионуклид треба да буде лако за детекцију нуклеарним инструментима, а доза радијације за пацијента треба да буде минимална.
- Терапијски радиофармацеутици могу да изазову оштећење ткива зрачењем.

Идеални радиофармацеутик

-захтеви

- Идеални радиофармацеутик треба да испуњава следеће захтеве:
 - једноставан за синтезу,
 - кратак ефективни полуживот,
 - гама емитер,
 - да се највећа количина примењеног радиофармацеутика накопља у циљаном ткиву,
 - да је метаболички инертан, односно да се не метаболише или разграђује пре него што доспе до циљног места у организму.

Идеални радиофармацеутик

Једноставно добијање

- Радиофармацеутик треба да буде једноставан за производњу и да је процес обележавања могућ у свим нуклеарно-медицинским лабораторијама.
- Сложене методе добијања радиофармацеутика повећавају трошкове.
- Примена кратко-живећих радиофармацеутика је ограничена због проблема са чувањем и транспортом.

Идеални радиофармацевтик

Кратак ефективен полуживот

- Радиофармацевтици треба да имају кратко ефективно време полураспада, које не би требало да буде дуже од времена потребног за спровођење дијагностичке процедуре.
- Сваки радионуклид има одређени полураспад, тзв. - физички полуживот и означава се са T_p или $t_{1/2}$. Физички полуживот радионуклида зависи искључиво од његових особина.
- Биолошки полуживот (T_b) радиофармацевтика представља време потребно да се половина радиофармацевтика елиминише из организма.

Идеални радиофармацевтик

Кратак ефективни полуживот

- Ефективни полуживот (T_e) је време потребно да се активност радионуклида унетог у биолошки систем смањи на половину због радиоактивног распада и биолошке елиминације.

$$T_e = \frac{T_p \times T_b}{T_p + T_b}$$

- Ефективни полуживот (T_e) је увек краћи од T_p и T_b .

Идеални радиофармацеутик

Гама емитер

- Радионуклид треба да буде чист гама емитер (енергије 100-150 keV) без емисије α и β честица.
- Радионуклиде који се распадају емисијом α и β честица не треба користити као обележиваче у дијагностичким радиофармацеутицима, јер излажу пацијента високим дозама зрачења.
- Међутим, α и β емитери су корисни за терапијску примену јер могу да доведу до оштећења измењених ћелија.

Фактори који утичу на дизајнирање радиофармацеутика

Компатибилност

- Приликом припреме обележеног једињења, први критеријум који треба размотрити је да ли се обележивач може уградити у молекул који треба обележити, то је могуће проценити на основу познавања њихових хемијских особина.
- На пример:
 - ^{111}In јон гради координативно-ковалентне везе са слободним електронским паром атома азота и кисеоника диетилентриаминопента сирћетне киселине (енгл. *diethylenetriaminepentaacetic acid* – DTPA) која је хелатирајући агенс.

Фактори који утичу на дизајнирање радиофармацеутика

Компатибилност

- Мешањем јона ^{111}In и DTPA у одговарајућим физичко-хемијским условима, настаје ^{111}In -DTPA који је стабилан дужи временски период.
- Само одређени радионуклиди могу да се користе за обележавање појединих фармацеутика, у зависности од њихових хемијских особина.

Фактори који утичу на дизајнирање радиофармацеутика

Стехиометрија

- У припреми новог радиофармацеутика, потребно је знати количину сваке компоненте коју треба додати.

Наелектисање молекула

- Наелектисање радиофармацеутика одређује његову растворљивост у различитим растварачима. Што је веће наелектисање, већа је растворљивост у воденом раствору. Неполарни молекули су растворљивији у органским растварачима и липидима.

Величина молекула

- Молекулска маса радиофармацеутика утиче на апсорпцију у биолошком систему. Већи молекули (молекулске масе >60000 g/mol) се не филтрирају кроз гломеруле бубрега.

Фактори који утичу на дизајнирање радиофармацеутика

Везивање за протеине

- Радиофармацеутици се везују за протеине плазме у одређеном степену и то најчешће за албумин, али и за глобулин и друге протеине. Индијум, галијум и многи јони метала се чврсто везују за трансферин у плазми.
- Везивање за протеине је под утицајем бројних фактора, као што су наелектрисање радиофармацеутика, рН вредност, природа протеина и концентрација анјона у плазми. На нижој рН вредности, протеини плазме су позитивно наелектрисани, па се анјонски радиофармацеутици везују чврсто за њих. Обим и јачину везивања радиофармацеутика за протеине, одређује природа протеина, тј. присуство и положај хидроксилних, карбоксилних и амино група у њиховој структури.

Фактори који утичу на дизајнирање радиофармацеутика

Везивање за протеине

- Везивање за протеине утиче на дистрибуцију радиофармацеутика у ткиву и плазма клиренс, као и на његово преузимање у орган од интереса.
- Радиофармецеутици (хелати метала, нпр. ^{111}In -DTPA) могу размењивати металне јоне са протеинима због јачег афинитета метала према протеину.
- Такав процес се назива "транс-хелација" и доводи до разградње радиофармецеутика.
- На пример, ^{111}In -хелати (^{111}In -DTPA), размењују ^{111}In са трансферином, при чему настаје ^{111}In -трансферин комплекс.

Фактори који утичу на дизајнирање радиофармацеутика

Растворљивост

- Радиофармацеутик намењен за парентералну примену треба да буде формулисан у облику воденог раствора оптималне рН вредности, јонске јачине и осмолалности.
- Растворљивост радиофармацеутика у липидима је битна за пролазак кроз ћелијске мембране и дистрибуцију у циљним органима. Везивање за протеине смањује растворљивост радиофармацеутика у липидима.

Фактори који утичу на дизајнирање радиофармацеутика

Стабилност

- Радиофармацеутик мора да буде стабилан *in vitro* и *in vivo*. Распад радиофармацеутика *in vivo* доводи до нежељене дистрибуције радиоактивности.
 - На пример, дехалогенизацијом радиофармецеутика обележеног јодом, настаје слободни радиојодид, који повећава позадинску активност (омета снимање).
- С обзиром да температура, рН вредност и присуство светлости утичу на стабилност многих радиофармецеутика, неопходно је обезбедити оптималне физичко-хемијске услове за њихову израду и складиштење.

Фактори који утичу на дизајнирање радиофармацеутика

Биодистрибуција

- Биодистрибуција подразумева дистрибуцију радиофармацеутика до ткива, плазма клиренс и излучивање путем урина и фецеса.
- Биодистрибуција се прати прикупљањем серије узорака крви у различитим временским интервалима након примене радиофармацеутика и мерењем његове радиоактивности у плазми.
- Проучавање биодистрибуције неопходно је за утврђивање ефикасности и ефективности радиофармецеутика.

Фактори који утичу на дизајнирање радиофармацеутика

Биодистрибуција

- Екскреција радиофармацеутика путем урина и фецеса је важна, јер што је већа стопа излучивања, мања је доза зрачења.
- Ове вредности могу да се одреде прикупљањем урина или фецеса у одређеним временским интервалима након примене радиофармацеутика и мерењем радиоактивности у узорцима.
- Токсични ефекти радиофармацеутика (оштећење ткива, дисфункција органа, смрт...) испитују се на експерименталним животињама.

Методе радиообележавања

- Постоји шест метода радиообележавања:
 - 1) Реакције измене изотопа,
 - 2) Увођење страног обележивача,
 - 3) Обележавање бифункционалним хелатирајућим агенсима,
 - 4) Биосинтеза,
 - 5) „*Recoil*“ обележавање,
 - 6) Обележавање екситацијом.

Методе радиообележавања

1) Реакције измене изотопа

- У реакцијама измене изотопа, један или више атома у фармацеутику се мења радиоактивним изотопом истог елемента.
- Пошто су радиообележени и полазни фармацеутик готово идентични (осим разлике у изотопу) очекује се да имају исте биолошке и хемијске особине.
- Примери су:
 - ^{125}I -тријодтиронин (Т3),
 - ^{125}I -тироксин (Т4),
 - једињења обележена ^{14}C , ^{35}S и ^3H .
- Ове реакције радиообележавања су реверзибилне и користе се за радиообележавање једињења која садрже јод радиоизотопом јода и за радиообележавање једињења трицијумом.

Методe радиообележавања

2) Увођење страног обележивача

- За ову врсту радиообележавања, страни радионуклид се уводи у молекул који има познату биолошку улогу, пре свега грађењем ковалентне или координативно-ковалентне везе.
- Неки од примера су албумин обележен ^{99m}Tc , ДТРА обележен ^{99m}Tc , црвена крвна зрнца обележена ^{51}Cr и многи протеини и ензими обележени јодом.
- Већина једињења обележених ^{99m}Tc која се користе у нуклеарној медицини настају хелатирањем ^{99m}Tc за ДТРА, глутептат и друге лиганде.

Методе радиообележавања

3) Обележавање бифункционалним хелатирајућим агенсима

- Индиректна метода обележавања представља поступак у коме је бифункционални хелатирајући агенс коњугован са макромолекулом (протеин, антитело) са једне стране и хелатиран радионуклидом (јоном метала) са друге стране.
- Примери бифункционалних хелатирајућих агенаса су:
 - DTPA,
 - металотионеин,
 - диамид димеркаптид (N_2S_2),
 - хидразиноникотинамид,
 - дитиосемикарбазон.

Методе радиообележавања

3) Обележавање бифункционалним хелатирајућим агенсима

- Постоје два начина обележавања коришћењем бифункционалног хелатирајућег агенса:
 1. Обележавање претходно синтетисаног коњугата (хелатирајући агенс коњугован са макромолекулом).
 2. Обележавање хелатирајућег агенса, након чега следи синтеза коњугата.

Методе радиообележавања

3) Обележавање бифункционалним хелатирајућим агенсима

1. Обележавање претходно синтетисаног коњугата (хелатирајући агенс коњугован са макромолекулом) подразумева да се бифункционални хелатирајући агенс најпре коњугује са макромолекулом, а затим настали коњугат реагује са јонима метала (ради обележавања) да би се формирао метал-хелат-макромолекул комплекс.

Због присуства хелатирајућег агенса, биолошка својства обележеног протеина се могу изменити, па их је пре клиничке употребе неопходно проверити.

Методе радиообележавања

3) Обележавање бифункционалним хелатирајућим агенсима

2. Обележавање хелатирајућег агенса пре синтезе коњугата подразумева иницијално обележавање хелатирајућег агенса (нпр. $^{99m}\text{Tc-DTPA}$), који се затим коњукује са макромолекулом.

- Иако на овај начин настаје метал-хелатни коњугат веће чистоће, ова метода је комплекснија и принос коњугата је мањи, тако да се чешће користи први приступ (обележавање претходно синтетисаног коњугата).

Методе радиообележавања

4) Биосинтеза

- Метода биосинтезе подразумева узгајање микроорганизама у медијуму који садржи радионуклид који се инкорпорира у њихове метаболите.
- Пример:
 - витамин B₁₂ је обележен ⁶⁰Со или ⁵⁷Со додавањем радионуклида у медијум у којем се узгаја микроорганизам *Streptomyces griseus*.
 - угљени хидрати, протеини и липиди обележени ¹⁴С.

Методе радиообележавања

5) „*Recoil*“ обележавање

- ***Recoil*** обележавање није од великог значаја и не користи се често.
- У нуклеарној реакцији, када се емитују честице из језгра, производе се ***recoil*** атоми или јони који могу да формирају везу са другим молекулима присутним у циљном материјалу.
- Висока енергија ***recoil*** атома даје мали принос и једињења обележена на овај начин имају ниску специфичну радиоактивност.
- Ова метода се најчешће користи за добијање радиофармацеутика обележених трицијумом.

Методе радиообележавања

6) Обележавање ексцитацијом

- Обележавање ексцитацијом подразумева коришћење радиоактивних и високо реактивних јона „потомака“ добијених у процесу нуклеарног распада.
- Током β распада или електронског захвата, настају високо реактивни јони који се могу користити за обележавање разних једињења.
- Криптон-77 (^{77}Kr) се распада на ^{77}Br и уколико се једињење које треба обележити изложи ^{77}Kr , онда ће високо реактивних јони ^{77}Br обележити једињење формирањем једињења брома.
- Слично томе, поједини протеини се могу обележити ^{123}I претходним излагањем ^{123}Xe , који се распада до ^{123}I .
- Принос који се добија овом методом је изузетно мали.

Фактори у радиообележавању

- Већина радиофармацеутика која се користи у клиничкој пракси се лако припрема у облику јонских и колоидних раствора, макроагрегата или хелатних форми, а многи се могу припремити коришћењем комерцијално доступних комплета за обележавање.

Ефикасност процеса обележавања

- Велики принос обележавања је пожељан, иако није увек достижан. Мањи принос је понекад прихватљив уколико су:
 - трошкови сведени на минимум,
 - добијени радиофармацеутик је високе чистоће,
 - радиофармацеутик није оштећен методом обележавања,
 - није доступан бољи начин обележавања.

Фактори у радиообележавању

Хемијска стабилност радиофармацеутик

- Стабилност радиофармацеутик зависи од врсте везе између радионуклида и фармацеутика. Радиофармацеутици са ковалентном везом су стабилни при различитим физичко-хемијским условима.

Денатурација или измена

- Структура и/или биолошка својства фармацеутика могу бити измењена разним физичко-хемијских факторима током поступка обележавања.
- На пример:
 - протеини се денатуришу загревањем, излагањем $pH < 2$ и $pH > 10$ и претераним јодирањем,
 - црвена крвна зрнаца се денатуришу загревањем.

Фактори у радиообележавању

Ефекат изотопа

- Ефекат изотопа резултује различитим физичким (а можда биолошким) својствима због разлика у тежинама изотопа.
- На пример, у једињењима која су обележена трицијумом, атом водоника је замењен атомима ^3H и разлика у масеним бројевима ^3H и ^1H може изменити особине обележених једињења.
- То је утврђено променама у физиолошком понашању воде која је обележена трицијумом.
- Ефекат изотопа није толико изражен када су изотопи тежи.

Фактори у радиообележавању

Радиофармацеутици „без додатог носача“

- Радиофармацеутици „без додатог носача“ се могу адхерирати на унутрашњим зидовима контејнера.

Услови складиштења

- Губитак радионуклида услед адхерирања на унутрашње зидове контејнера може се спречити коришћењем бочица обложених силиконом.
- Многи радиофармацеутици (нарочито они који су протеинске пророде) су при вишим температурама подложни денатурацији.
- Светлост такође утиче на деградацију појединих радиофармацеутици, па их треба чувати заштићене од светлости (на тамном месту).

Фактори у радиообележавању

Специфична радиоактивност

- Специфична радиоактивност дефинише се као радиоактивност по граму обележеног материјала.
- Понекад је висока специфична радиоактивност неопходна за радиоактивно обележавање фармацеутика одговарајућом методом.
- Међутим, висока специфична радиоактивност може проузроковати ауторадиолизу.

Фактори у радиообележавању

Радиолиза

- Термин радиолиза односи се на деградацију једињења под утицајем зрачења.
- Многи радиофармацеутици разлажу се услед зрачења које емитују радионуклиди присутни у њима и овај процес назива се ауторадиолиза.
- Што је већа специфична радиоактивност, већи је ефекат ауторадиолизе.
- Зрачење може да разгради и раствараче, при чему настају слободни радикали који могу да раскину хемијску везу радиофармацеутика и тај процес назива се индиректна радиолиза.
- Да би се спречила индиректна радиолиза, рН вредност растварача треба да буде неутрална, јер се реакција ове природе чећше јављају при алкалној или киселој рН вредности.

Фактори у радиообележавању

Пречишћавање и анализа

- Радионуклидне нечистоће настају током поступка добијања радионуклида.
- Фисијом тешких језгара се добија више радионуклида који доприносе већем степену нечистоће, него што је то случај када се радионуклиди добијају нуклеарним реакцијама у циклотрону или реактору.
- Уклањање радиоактивних нечистоћа се може постићи различитим хемијским методама сепарације и то најчешће у фази добијања радионуклида.
- Радиохемијске и хемијске нечистоће настају од непотпуног обележавања једињења и могу се испитати различитим аналитичким методама попут екстракције растварачем, измене јона, гел или танкослојне хроматографије и електрофорезе. Често ове нечистоће настају природном деградацијом или радиолизом након обележавања.

Фактори у радиообележавању

Рок трајања

- Радиофармацеутици имају рок трајања током ког се могу безбедно користити.
- На губитак ефикасности радиофармацеутика утичу следећи фактори:
 - радиолиза,
 - полураспад радионуклида,
 - растварачи,
 - адитиви,
 - природа емитованог зрачења и
 - природа хемијске везе између радионуклида и фармацеутика.
- Рок трајања радиофармецеутика најчешће износи три физичка полуживота, а максимално 6 месеци.
- Нпр, рок трајања радиофармецеутика обележеног ^{99m}Tc варира између 0,5 и 18 часова (просечно 6 часова).