

¿Es el Actinio-225 una oportunidad real para la terapia radionucleídica?

José Luis Crudo¹, Adriano Duatti².

1 - Laboratorio de Nanomedicina, Centro Atómico Constituyentes, Comisión Nacional de Energía, Buenos Aires, Argentina.

2 - Department of Chemical and Pharmaceutical Sciences, University of Ferrara, Ferrara, Italy.

Resumen

Fecha de recepción: 26 de Agosto 2023; fecha de aceptación: 27 de septiembre 2023.

Este trabajo corresponde a un comentario sobre problemas aún no resueltos que desafían el desarrollo de los radiofármacos de ^{225}Ac de uso clínico para la terapia dirigida con radionucleidos alfa (TAT). Entre ellos se encuentra la ausencia de un control de calidad confiable para determinar la pureza radioquímica según las Buenas Prácticas de Manufactura (GMP), la efímera estabilidad química de la unión entre el ^{225}Ac y los agentes quelantes comunes, y el efecto disruptivo del retroceso inducido por la desintegración del ^{225}Ac con la liberación de una cascada de radionucleidos hijos. Las desfavorables propiedades químicas y nucleares del ^{225}Ac , combinadas con la ausencia de emisiones γ adecuadas para monitorear la farmacodinamia *in vivo* de sus radiofármacos, dificultan la realización de biodistribuciones en modelos animales y la obtención de datos dosimétricos realistas. Aunque el ^{225}Ac suscita considerable interés para TAT y se han informado algunos ensayos clínicos, es cuestionable si estos tienen una base sólida.

Palabras clave: Actinio-225, Radiofármacos de Actinio-225, Terapia radionucleídica, Terapia alfa dirigida (TAT), Control de calidad.

Abstract

Reception date: August 26, 2023; acceptance date: September 27, 2023.

This is a commentary on the still unsolved problems that are challenging the development of clinically useful ^{225}Ac radiopharmaceuticals for targeted alpha radionuclide therapy (TAT). These issues include the absence of a reliable quality control for establishing the radiochemical purity according to Good Manufacturing Practice (GMP), the ephemeral chemical stability of the bonding between ^{225}Ac and common chelating ligands, and the disruptive recoil effect induced by the α decay of ^{225}Ac with the consequent release of a cascade of free radioactive daughters. The unfavorable nuclear and chemical properties of ^{225}Ac , combined with the absence of γ emissions suitable for monitoring the *in vivo* pharmacodynamics of ^{225}Ac radiopharmaceuticals, make it arduous to undertake biodistributions in animal models and to obtain realistic dosimetry data. Although ^{225}Ac is currently attracting considerable interest for TAT and a few clinical trials have been reported, it remains questionable whether these studies stand on a solid basis.

Keywords: Actinium-225, Actinium-225-radiopharmaceuticals, Radionuclide therapy, Targeted alpha therapy (TAT), Quality control.

Introducción

El paradigma fundamental de la terapia radionucleídica (RT) está basado en la acumulación selectiva de una sustancia radioactiva en un tejido blanco seguida por la deposición de una dosis letal de radiación ionizante, que resulta en la disrupción de las células blanco^(1,2). La dosis letal capaz de provocar la eliminación del tejido neoplásico depende del tipo de partícula emitida durante la desintegración radiactiva. Las partículas masivas se consideran las más apropiadas para la RT porque ellas pueden depositar una alta densidad de energía dentro de un pequeño volumen de tejido, generando así un gran efecto terapéutico. La transferencia lineal de energía (LET) es la cantidad de energía que una partícula ionizante deposita en un

material por unidad de distancia. La curva de Bragg grafica la pérdida de energía de la radiación ionizante durante su trayectoria a través de la materia y su máximo es llamado pico de Bragg. Una LET menor está necesariamente asociada con un pico de Bragg alto y, consecuentemente, con la deposición de una alta densidad de energía ionizante en un pequeño volumen de tejido con un fuerte aumento de la eficacia biológica relativa (RBE) para originar una disrupción en las células blanco anormales.

Las partículas emitidas en la desintegración alfa (α), no son elementales, sino que están formadas por un agregado de dos protones (p) y dos neutrones (n) correspondientes a un estado ligado del núcleo de ^4He (ppnn). De ello se deduce que las partículas α deben poseer una carga neta de +2 y exhibir un LET alto cerca del pico de Bragg al final de su recorrido, resultando en un rango en tejidos de aproximadamente 40-100 μm , equivalente a unos pocos diámetros celulares. La deposición media de energía de una partícula α en los tejidos es de 80 keV/ μm y este alto LET puede generar un gran número de eventos de ionización por trayecto, lo que contribuye a roturas letales e irreparables de la doble cadena del ADN (DSB).

Debido a estas notables propiedades, en los últimos años, la terapia dirigida con partículas α (TAT) se ha convertido en una de las opciones más atractivas en los estudios de RT, superando el interés por los radionucleidos emisores β^- comúnmente usados. La TAT ofrece una herramienta eficiente y más precisa para erradicar tumores pequeños y micrometástasis con dimensiones por debajo de los límites de detección de los dispositivos de imágenes actuales⁽³⁻⁷⁾.

Entre los emisores de partículas α , el actinio- 225 (^{225}Ac) se encuentra actualmente bajo intensa investigación para TAT. Tiene un período de semidesintegración de 9.92 días y decae mediante tres emisiones α secuenciales generando una progenie de vida corta compuesta por los radionucleidos hijos ^{221}Fr ($T_{1/2} = 4.8$ min), ^{217}At ($T_{1/2} = 32.3$ ms) y ^{213}Bi ($T_{1/2} = 45.6$ min).

Por último, el ^{213}Bi sufre desintegraciones beta- y gamma y se transforma en ^{209}Bi estable. Por tanto, la cadena de desintegración predominante del ^{225}Ac produce cuatro partículas α con una energía acumulada de 28 MeV junto con dos partículas beta- con energía máxima de 1.6 y 0.6 MeV. Además, las emisiones γ están asociadas con las desintegraciones de ^{221}Fr (218 keV, 11.6% de probabilidad de emisión de fotones) y ^{213}Bi (440 keV, 26.1% de probabilidad de emisión de fotones), respectivamente⁽⁸⁾.

Las propiedades nucleares aparentemente favorables del ^{225}Ac han despertado la esperanza de que pueda convertirse en un radionúclido exitoso para TAT y han estimulado fuertemente la búsqueda sin precedentes de radiofármacos terapéuticos de ^{225}Ac para el tratamiento del cáncer. Sin embargo, hasta ahora han surgido desafíos clave y serios inconvenientes que han impedido que el ^{225}Ac alcance su máximo potencial clínico. Por ejemplo, un problema crítico y aún sin resolver se origina en el requisito de que el ^{225}Ac y su progenie se incorporen de manera estable a la estructura molecular del vector dirigido para evitar la pérdida del radionucleido, o sus hijos generados a partir de la cascada de emisiones de partículas α . La inestabilidad química *in vivo* de los radiofármacos basados en ^{225}Ac puede provocar el depósito de una carga radiotóxica elevada e inespecífica en los tejidos circundantes.

El propósito de esta revisión es resumir los resultados y desafíos de la investigación actual dirigida al desarrollo de radiofármacos basados en ^{225}Ac para TAT con especial énfasis en el análisis de los problemas fundamentales y los conceptos erróneos que generalmente afectan el diseño y la caracterización de esta nueva clase de radiofármacos terapéuticos.

Desarrollo

Producción y disponibilidad de Actinio-225

La principal fuente de ^{225}Ac proviene de la desintegración del ^{229}Th ($T_{1/2} = 7340$ años), que se aísla del ^{233}U generado en un reactor. Dado que no existe una producción a gran escala de ^{233}U , actualmente se puede obtener un suministro viable de ^{229}Th del Directorate for Nuclear Safety and Security of the Joint Research Center (anteriormente conocido como Institute for Transuranium Elements) en Alemania, del Oak Ridge National Laboratory en Estados Unidos de América y del Institute of Physics and Power Engineering, de Rusia.

Alternativamente, el ^{225}Ac puede ser producido a través de la reacción nuclear $^{226}\text{Ra}(p,2n)^{225}\text{Ac}$ mediante el bombardeo de blancos radiactivos de ^{226}Ra con haces de protones de 18 MeV de energía acelerados por ciclotrón. Notablemente, esta ruta de producción aún se encuentra bajo cuidadosa evaluación experimental debido a los posibles problemas de seguridad asociados con la fabricación de blancos radiactivos y, por lo tanto, aún no contribuye al suministro global de ^{225}Ac ⁽⁹⁻¹²⁾.

En la actualidad, las capacidades para producir y manejar cantidades macroscópicas de ^{229}Th son muy limitadas y su producción global anual promedio es de aproximadamente 63 GBq (1.7 Ci), lo que es en gran medida insuficiente para garantizar una cobertura a gran escala de posibles aplicaciones médicas basadas en radiofármacos de ^{225}Ac .

Química básica del Actinio

El actinio (Ac) es el elemento más ligero de la serie de los actínidos y se han identificado o producido sintéticamente un total de 32 isótopos, que van desde el ^{205}Ac al ^{236}Ac . Dado que todos estos isótopos son inestables, sólo ^{227}Ac y ^{228}Ac se pueden encontrar en la naturaleza como componentes de las cadenas de desintegración naturales de ^{235}U y ^{232}Th , respectivamente.

Debido al limitado suministro y la alta radiactividad de todos sus isótopos, la química del Ac permanece en gran medida

inexplorada. Sin embargo, a pesar de esta comprensión incompleta, se han determinado experimentalmente o inferido varias pistas sobre las propiedades químicas fundamentales del Ac a partir de la comparación con el comportamiento químico del ion lantano La^{3+} . Sólo el ion Ac^{3+} es estable en solución acuosa, en este estado de oxidación, este ion tiene una configuración electrónica de capa cerrada idéntica a la del gas noble radón.

Como resultado, no hay electrones de valencia presentes en los orbitales externos 6d o 5f y necesariamente el ion Ac^{3+} es diamagnético. Además, la falta de desdoblamiento del campo-ligando no permite que se produzcan transiciones electrónicas y esto hace que el ion Ac^{3+} se vuelva espectroscópicamente invisible⁽¹³⁻¹⁵⁾.

La ausencia de electrones de valencia impide la formación de enlaces covalentes entre el ion Ac^{3+} y los ligandos de coordinación. Por lo tanto, el enlace metal-ligando en los complejos de Ac se rige principalmente por interacciones electrostáticas y restricciones estéricas. En este sentido, una propiedad única del ion Ac^{3+} proviene de su gran radio iónico, que es el mayor entre todos los iones +3 de la tabla periódica.

El gran tamaño iónico determina una baja densidad de carga y, en consecuencia, conduce a la formación de complejos cinéticamente lábiles porque la fuerza de las interacciones electrostáticas aumenta según la relación carga / distancia.

Además, la ausencia ubicua de energía de estabilización del campo-ligando da lugar a una alta diversidad estructural en los complejos de Ac que está limitada únicamente por el grado de saturación de la esfera de coordinación alrededor del ion Ac^{3+} y las interacciones estéricas ligando-ligando^(13,14).

El isótopo más longevo, el ^{227}Ac , tiene un período de semidesintegración de sólo 21,77 años. Este corto período de semidesintegración, combinado con la disponibilidad limitada de cantidades macroscópicas y los peligros radiológicos asociados, han impedido la aplicación de técnicas cristalográficas rigurosas para la caracterización estructural de los complejos de Ac. Únicamente se han obtenido datos estructurales mediante difracción de rayos X en polvo, aunque no fueron significativamente valiosos para determinar las geometrías de coordinación precisas alrededor del ion Ac^{3+} ^(16,17). Los valores de las distancias de enlace Ac-ligando fueron medidos en algunos complejos de ^{227}Ac mediante espectroscopía de Estructura fina de absorción de rayos X extendida (EXAFS)⁽¹⁶⁾.

Cuando se llevaron a cabo en soluciones acuosas, estos experimentos revelaron que un número promedio de 10.9 ± 0.5 moléculas de agua de la esfera interna están coordinadas con el centro de Ac^{3+} . Esta observación constituye el único ejemplo de la formación de una estructura undeca-coordinada entre complejos homolépticos acuo-metal y proporciona evidencia de que Ac^{3+} puede exhibir una química sin precedentes y divergente de la de los lantánidos⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

Química de marcación del Actinio-225

El fuerte carácter electrostático de la interacción metal-ligando en los complejos de Ac sugiere que la estrategia de estabilización más efectiva debería emplear ligandos cíclicos y acíclicos polidentados que contengan átomos de coordinación altamente electronegativos. En principio, este tipo de ligandos podrían impartir estabilidad a través de los efectos combinados de la interacción electrostática entre el ion Ac^{3+} y los átomos de unión electronegativos y del modo quelante del ligando polidentado.

Obviamente, estos efectos pueden ser maximizados seleccionando grupos electronegativos cargados negativamente (p. ej., F^- , O^- , Cl^-) como átomos de coordinación. Otro desafío en el diseño de ligandos para Ac^{3+} es el gran radio iónico de este ion, resultando en un valor insignificante de la relación carga-radio iónico, una característica que conduce a interacciones electrostáticas más débiles con los ligandos⁽¹³⁾.

Para la implementación exitosa de TAT con ^{225}Ac , este radionucleído debe ser entregado con alta especificidad y retenido dentro de las cercanías de las células cancerosas blanco durante su desintegración nuclear. Estas condiciones son mejor logradas por unión covalente de un vector dirigido a tumores a un quelante bifuncional que forma un complejo termodinámica y cinéticamente estable con el ion $^{225}\text{Ac}^{3+}$.

Sin embargo, la estrategia más eficaz para unir químicamente el ion Ac al farmacóforo dirigido a las células cancerosas sigue siendo una pregunta abierta^(14,15,18,19). El desplazamiento del Ac antes de su llegada al sitio blanco puede provocar graves efectos secundarios tóxicos derivados del daño no selectivo sobre tejido sano causado por la emisión de partículas α . La inestabilidad *in vivo* de los complejos ^{225}Ac -ligando se ve reflejada en la acumulación de ^{225}Ac libre en el hígado y los huesos, donde sus emisiones radioactivas dan lugar a efectos radiotóxicos agudos. Otro impedimento importante para su uso clínico está relacionado con el destino biológico de sus hijos emisores, particularmente ^{213}Bi , que se acumula en los riñones.

Por lo tanto, la formación de complejos de ^{225}Ac cinéticamente inertes es un requisito previo crucial para la aplicación de este radionúclido para TAT. Desafortunadamente, el desarrollo de agentes quelantes bifuncionales (BFCA) eficaces para $^{225}\text{Ac}^{3+}$ se ha visto obstaculizado por las pobremente conocidas propiedades químicas básicas de este ion radiactivo. Esta falta de conocimiento sobre la química de coordinación del Ac^{3+} hace que sea difícil identificar con precisión qué ligandos formarán complejos estables *in vitro* e *in vivo* con este^(13,16,17,18).

El ligando DOTA es un macrociclo de 12 miembros octadentado con cuatro donores de nitrógeno de amina terciaria y los cuatro brazos de ácido carboxílico (Figura 1)^(20,21). Este ligando es ampliamente utilizado para la quelación estable de otros radiometales tripositivos como ser $^{68}\text{Ga}^{3+}$, $^{111}\text{In}^{3+}$, $^{177}\text{Lu}^{3+}$, $^{86/90}\text{Y}^{3+}$ y $^{44/47}\text{Sc}^{3+}$, y es un componente crítico del péptido

aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) para el diagnóstico ($[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTATATE}$) y el tratamiento ($[^{177}\text{Lu}]\text{Lu-DOTATATE}$) de tumores neuroendocrinos (NET) con receptores positivos de somatostatina (SSR+).

Basado en su capacidad para coordinar de manera estable iones $+3$ químicamente duros, era de esperar que el DOTA proporcionara un andamiaje quelante conveniente para el ion Ac^{3+} .

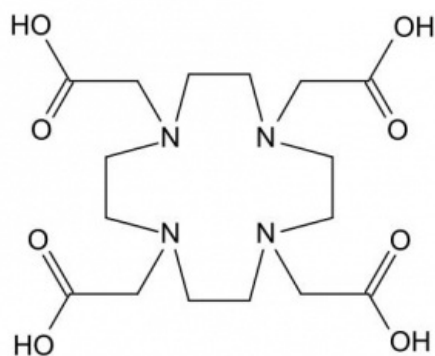


Figura 1 Estructura química del ligando macrocíclico DOTA [2,2',2'',2'''-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid)].

Sin embargo, resultados experimentales mostraron que la eficiencia de marcación del DOTA es deficiente y que la cinética de formación de complejos Ac-DOTA es bastante lenta, indicando esto que las propiedades de quelación de ^{225}Ac con DOTA no son óptimas para respaldar convincentemente su uso seguro en aplicaciones terapéuticas. Esta observación también fue respaldada por resultados recientes que muestran la baja afinidad de los átomos de nitrógeno por el ion Ac^{3+} ⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Considerando el fuerte carácter iónico de la interacción química Ac-DOTA , la estabilidad de los complejos Ac^{3+} con DOTA está inversamente relacionada con el radio iónico del ion metálico, con centros metálicos más grandes dando lugar a complejos menos estables debido a la disminución de la densidad de carga sobre el átomo metálico. Además, la inercia cinética de los complejos radiometal-ligando es otro factor importante que determina la eficacia de unión de los agentes quelantes para TAT. Los radiofármacos son administrados a muy bajas concentraciones y, por tanto, están sujetos a condiciones muy diluidas tanto *in vitro* como *in vivo*. El efecto frecuente de esta fuerte dilución es favorecer la velocidad de descomposición de un complejo radiometal-ligando.

En este contexto, varios estudios reportaron la pérdida de ^{225}Ac de DOTA tanto *in vitro* como *in vivo* y, por lo tanto, han cuestionado seriamente la estabilidad cinética de los complejos $^{225}\text{Ac-DOTA}$. Además, la baja velocidad a la que se produce la radiomarcación siempre requiere la aplicación de elevada temperatura para lograr rendimientos radioquímicos satisfactorios dentro de un período de tiempo razonable, y esto también constituye un desafío importante para el uso clínico generalizado de DOTA para $^{225}\text{Ac-TAT}$.

Recientemente, un interesante estudio llevado a cabo en Los Alamos National Laboratory (LANL) sobre la marcación de DOTA con ^{225}Ac arrojó un resultado inesperado. Bajo todas las condiciones de marcación consideradas en este estudio, el Ac^{3+} no se coordinó con el ligando macrocíclico. En cambio, el tercer isótopo hijo en la cadena de desintegración del ^{225}Ac , el ^{213}Bi , fue incorporado rápida y selectivamente por el resto del DOTA ^(16,17). Este resultado reveló la inesperada baja afinidad del ion Ac^{3+} por el átomo de nitrógeno. De hecho, la estimación de la constante de unión (K) de Ac^{3+} con el ligando donador de nitrógeno arquetípico, NH_3 , dio un valor relativamente pequeño ($\log K = 0.8$) comparado con el alto valor para Bi^{3+} ($\log K = 5.1$), explicando así la selectividad del DOTA observada para este ion. Estos datos sugieren que un agente quelante macrocíclico más eficaz para Ac^{3+} debería estar enriquecido en átomos de oxígeno (que son donantes más duros que los átomos de nitrógeno), u otros donantes menos polarizables, en lugar de donantes de nitrógeno. Las limitaciones intrínsecas del DOTA estimularon el estudio de ligandos alternativos y los ligandos acíclicos se encuentran entre los más extensamente explorados porque generalmente permiten una rápida radiomarcación a temperatura ambiente en cuestión de minutos ^(13,14,18,19,20,21). Sin embargo, se encontró que esta clase de ligandos no formaba complejos cinéticamente inertes con ^{225}Ac y los estudios de biodistribución en ratones revelaron una acumulación significativa de radioactividad en hígado y en hueso, consistente con el patrón de biodistribución de Ac^{3+} no quelado ⁽²²⁾.

El efecto retroceso

El desafío de la retención estable surge tanto de la falta de agentes quelantes adecuados para el ^{225}Ac como del efecto de retroceso α , un fenómeno basado en la conservación de las leyes del momento que regulan la liberación de una partícula α . Tras la emisión de una partícula α , los radionucleidos hijos experimentan una energía de retroceso de aproximadamente 100-200 keV, que es mucho mayor que la energía de cualquier enlace químico y, por lo tanto, siempre dará como resultado que el nucleido hijo se libere del agente quelante ⁽²³⁾. Aunque esfuerzos significativos han sido hechos en el desarrollo de agentes quelantes que formen complejos termodinámicamente estables y cinéticamente inertes con ^{225}Ac , el efecto retroceso sigue siendo un desafío insuperable con respecto a las estrategias de complejación convencionales. La cantidad total de energía liberada en la desintegración α debido al retroceso del nucleido hijo excede la de 10.000 enlaces químicos. Como resultado, los

nucleidos hijos emergentes siempre se disociarán del vector dirigido inmediatamente después de su formación, causando que las progenies se desprendan los quelatos y escapen como radionucleidos libres, que pueden transportar una parte importante de la energía de desintegración. Además, las diferentes propiedades químicas de los nucleidos hijos pueden hacer que la reasociación con el grupo quelante sea muy improbable⁽¹⁸⁾. Estos nucleidos hijos "libres" son una fuente crítica de radiotoxicidad limitante de la dosis y reducen significativamente la máxima actividad tolerable (MTA) del radiofármaco, haciendo incierta la determinación de la dosis terapéutica a ser administrada al paciente⁽²³⁻²⁶⁾.

Control de calidad de radiofármacos basados en ^{225}Ac

Otra cuestión crítica es que existe una limitación inherente en los procedimientos actuales de control de calidad (QC) para los radiofármacos de ^{225}Ac que hace imposible determinar con precisión su pureza radioquímica (PRQ), que es un parámetro esencial para garantizar la seguridad de un radiofármaco. Las reglas de las Buenas Prácticas de Radiofarmacia (GRP) dictan que la pureza radioquímica de un radiofármaco inyectable *debe* ser determinada mediante un método analítico adecuado antes de su administración al paciente. La PRQ se define como la "relación entre la actividad de un radionucleido en una *especie química determinada* en un material sobre la actividad total de todas las especies que contienen ese radionucleido en este material". Esta definición implica que la PRQ de un radiofármaco sólo puede ser medida cuando su verdadera identidad molecular ha sido establecida. Esta caracterización básica es llevada a cabo usualmente en cantidades macroscópicas de una muestra *auténtica* del radiofármaco, sintetizada utilizando un isótopo estable del radionucleído médico y asumiendo que posee la misma composición y estructura molecular que el propio radiofármaco. Dado que esta caracterización molecular implica sofisticadas técnicas para la determinación de la estructura, no puede ser realizada rutinariamente en una radiofarmacia y, por lo tanto, un enfoque ampliamente aceptado es primero aislar y caracterizar estructuralmente la muestra auténtica y, luego, comparar su perfil cromatográfico con el del correspondiente radiofármaco cuando simultáneamente se analiza mediante cromatografía líquida de alta performance (HPLC) o cromatografía instantánea de capa delgada (ITLC) bajo las mismas condiciones experimentales para la validación cruzada. Una estrecha coincidencia entre estos dos perfiles cromatográficos proporciona una fuerte evidencia de que el radiofármaco tiene la misma identidad química que la muestra auténtica. Finalmente, para evaluar la pureza radioquímica de un radiofármaco preparado rutinariamente en un entorno hospitalario, es suficiente verificar si su radio-cromatograma HPLC o ITLC siempre incluye el pico correspondiente a la muestra auténtica^(27,28).

La escasez de materiales de actinio purificados combinada con la falta de isótopos estables y de propiedades espectroscópicas mensurables de este elemento, ha impedido el aislamiento y la investigación estructural de muestras auténticas de sus compuestos de coordinación y, por tanto, el estudio de sus propiedades cromatográficas. Además, la ausencia de emisión gamma hace arduo desarrollar un control de calidad confiable de los radiofármacos de ^{225}Ac utilizando métodos radioquímicos convencionales. En la actualidad, no existen métodos químicos o físicos confiables para evaluar la verdadera naturaleza química de los radiofármacos de ^{225}Ac después de su preparación, y el control de calidad usualmente es llevado a cabo en forma indirecta mediante métodos cromatográficos. Un procedimiento ampliamente empleado para el control de calidad de los radiofármacos de ^{225}Ac utiliza la cromatografía en capa delgada (TLC), que implica la deposición de una pequeña gota de la solución de marcación sobre la superficie de una hoja de papel cromatográfico que posteriormente se eluye con una fase móvil. Después del secado, la radioactividad depositada sobre el papel sólo puede ser detectada después de que el equilibrio secular entre el ^{225}Ac y sus hijos es alcanzado. En particular, se debe lograr el crecimiento interno del radioisótopo emisor gamma ^{211}Fr para medir una señal. Esto usualmente requiere varios minutos y durante este tiempo el efecto retroceso y la inestabilidad intrínseca de los radiofármacos de ^{225}Ac pueden reducir drásticamente las purezas radionucleídica (ver más abajo) y radioquímica de la preparación radiofarmacéutica, desafiando así la calidad y seguridad del producto^(23,27,29). El inconveniente más importante de este sencillo procedimiento es nuevamente la ausencia de cualquier caracterización de la naturaleza química de las sustancias incorporadas en la marca radioactiva depositada sobre la tira de TLC. No es suficiente afirmar que utilizando una fase móvil seleccionada el supuesto ^{225}Ac complejo migra con el frente del solvente y el ^{225}Ac no complejo permanece en el origen, mientras que en otra fase móvil ocurre lo contrario.

Es importante notar que el poder de separación de la TLC es extremadamente pobre y, en consecuencia, la incertidumbre sobre el número y la naturaleza química de las supuestas especies complejadas y no complejadas siempre persiste. En solución acuosa, no pueden existir iones libres y las moléculas de agua polares siempre pueden unirse al centro de ^{225}Ac cargado positivamente. Como se mencionó anteriormente, un número de coordinación de aproximadamente 12 ha sido medido para el ion $[\text{}^{225}\text{Ac}]\text{Ac}^{3+}$ en agua⁽¹⁶⁾. La hidrólisis de las moléculas de agua coordinadas puede producir una multitud de especies químicas con diferentes cargas, incluyendo complejos heterolépticos mixtos H_2O -quelantes de ^{225}Ac , que no pueden ser separados mediante una simple TLC. Eventualmente, la hidrólisis conduce a la formación de hidróxidos insolubles. Para enfatizar aún más la confusión existente en los datos de la literatura sobre la identidad química y el destino de los complejos de ^{225}Ac , las investigaciones llevadas a cabo en LANL [16,17] aplicando técnicas espectroscópicas robustas y confiables, como EXAFS, demostró recientemente que el grupo ^{225}Ac -DOTA es intrínsecamente lábil en solución acuosa. Sin embargo, otras publicaciones proclaman insistentemente la estabilidad de estas especies y respaldan esta conclusión utilizando datos experimentales siempre obtenidos mediante métodos poco fiables, como la simple TLC, que son notoriamente incapaces de determinar la verdadera identidad de una especie química^(18,28,29).

Para obtener una comprensión más profunda de las dificultades reales asociadas con el uso de ^{225}Ac como precursor radiofármaco, es útil analizar la relación entre las constantes de desintegración (λ) del hijo ^{221}Fr y del padre ^{225}Ac . Esto es igual a 2915.26. Utilizando la ecuación de Bateman, es fácil demostrar que, 30 segundos después de la producción y purificación de ^{225}Ac , la actividad de ^{221}Fr es el 6.83% de la actividad inicial de ^{225}Ac . Después de 1, 4.9, 9.8, 14.7, 19.6, 24.5 y 29.4 minutos,

la actividad de ^{221}Fr es 13.2%, 50.0%, 75.0%, 87.5%, 93.7%, 96.8% y 98.3% de la actividad inicial de ^{225}Ac , respectivamente. De manera similar, la relación entre las λ de los radionucleidos ^{217}At y ^{221}Fr es 9102.17. Nuevamente, utilizando la ecuación de Bateman, la actividad teórica del ^{217}At , calculada a los 0.323 segundos después del equilibrio del ^{221}Fr , es el 99,9% de la actividad del ^{221}Fr . Dado que la actividad teórica del ^{213}Bi , calculada a los 248 minutos después del equilibrio del ^{217}At , es el 94.9% de la actividad del ^{217}At , se deduce que, incluso si el tiempo transcurrido entre la purificación del ^{225}Ac en las instalaciones de producción y la posterior radiomarcación en el servicio de medicina nuclear fuera de 4 horas y 38 minutos, se alcanza fácilmente el equilibrio transitorio. Bajo esta condición de equilibrio, las actividades de ^{225}Ac , ^{221}Fr , ^{217}At y ^{213}Bi son todas aproximadamente iguales y, en consecuencia, el ^{225}Ac contiene un 294.9% de impurezas radionucleídicas. Esta notable disminución de la pureza radionucleídica del ^{225}Ac tiene un impacto dramático en la pureza final del radiofármaco. Por ejemplo, si un derivado de DOTA es radiomarcado con ^{225}Ac con una pureza radionucleídica inicial del 100 %, suponiendo un rendimiento de marcación del 95 % y un tiempo de reacción de 60 minutos, al final del procedimiento es obtenida una mezcla de las siguientes especies radiactivas: ^{225}Ac -DOTA-derivado, ^{225}Ac libre, ^{221}Fr libre y ^{217}At libre, teniendo estos tres últimos radionucleidos la misma actividad. Considerando el alta constante de afinidad (K_a) de DOTA por ^{213}Bi , la especie ^{213}Bi -DOTA-derivado también puede formarse en el 34.4% de la actividad ^{225}Ac , produciendo así una impureza radionucleídica total del 234,4%. Para paliar el problema de la presencia de iones radiactivos libres, una estrategia previamente aplicada a la preparación de radiofármacos ^{90}Y - y ^{177}Lu -DOTA ha sido propuesta. Este enfoque consistió en la adición del ligando acíclico ácido dietilen triamino pentaacético (DTPA) a la solución de marcación. El DTPA es un agente quelante octadentado y, por lo tanto, potencialmente capaz de secuestrar los iones libres $^{90}\text{Y}^{3+}$ y $^{177}\text{Lu}^{3+}$ mediante la formación de complejos hidrófilos ^{90}Y -DTPA y ^{177}Lu -DTPA, que luego son rápidamente eliminados por depuración renal^(14,17,18,22). Aunque, en principio, este enfoque también puede utilizarse para eliminar el ^{225}Ac libre, varios informes^(11,16,17,18,19) han destacado que el DTPA no es un agente quelante fuerte para los iones $^{225}\text{Ac}^{3+}$, lo que genera dudas de que la estrategia del DTPA pueda ser verdaderamente eficaz en la eliminación del catión libre. Además, dado que el DOTA y el DTPA no son buenos grupos quelantes para metales alcalinos y halógenos, la formación de complejos estables de ^{221}Fr y ^{217}At es improbable. También es obvio que determinar el destino *in vivo* de todas las especies radiomarcadas utilizando las ecuaciones de Bateman es virtualmente imposible porque sus vidas medias biológicas son totalmente desconocidas.

Las consideraciones anteriores revelan inconvenientes aún más críticos relacionados con el uso de ^{225}Ac como radionucleido médico. Los estudios de biodistribución de péptidos y anticuerpos radiomarcados mostraron que estos radiofármacos tardan aproximadamente de horas a días en acumularse en el tejido blanco. Esto implica que, al final de la administración, cuando los radiofármacos de ^{225}Ac aún no se han acumulado en el blanco, el resto de la actividad de ^{225}Ac está presente como ^{221}Fr , ^{217}At y ^{213}Bi libres. En particular, durante la conversión a ^{221}Fr solo es emitida una partícula α , pero el ^{221}Fr y sus hijos libres posteriormente entregarán a los tejidos no-blanco tres partículas α más, exacerbando así aún más el problema de la dosimetría. Esta cadena de desintegraciones interconectadas se ha denominado "generador de radionucleidos *in vivo*" porque el radionucleido original no se absorbe en una columna cromatográfica sino que circula en el pool de sangre o se localiza en diferentes tejidos de un organismo vivo. Cabe señalar que cuando la vida media biológica ($T^{\text{bio}\frac{1}{2}}$) de una especie radiomarcada es más corta que el período de semidesintegración ($T^{\text{fis}\frac{1}{2}}$) del radionucleido, la actividad total en el cuerpo $A(t)$ en cualquier instante decaerá en función de la vida media efectiva ($T^{\text{efec}\frac{1}{2}}$), donde $T^{\text{efec}\frac{1}{2}} = (1/T^{\text{fis}\frac{1}{2}} + 1/T^{\text{bio}\frac{1}{2}})^{-1}$. Sin embargo, esta relación no es válida para los radiofármacos de ^{225}Ac porque el ^{225}Ac libre tiene una $T^{\text{bio}\frac{1}{2}}$ diferente a la del radiofármaco y la actividad total de ^{225}Ac libre depende de la actividad inicial de ^{225}Ac libre, del porcentaje de impurezas radioquímicas y de la actividad de ^{225}Ac libre liberada con el tiempo debido a la inestabilidad inherente *in vivo* de los radiofármacos de ^{225}Ac .

En resumen, el enorme problema que plantean los radiofármacos de ^{225}Ac no se deriva ni de la necesidad de encontrar ligandos bifuncionales más eficaces y sofisticados, ni de su desafiante y elusiva química de marcación, sino más bien de los valores fundamentales de las constantes de desintegración que rigen la transformación nuclear del ^{225}Ac y de sus hijos radiactivos. Estos valores están esculpidos por las leyes del universo y no pueden ser cambiados por ninguna tecnología humana.

Esfuerzos para detectar ^{225}Ac en estudios de imágenes preclínicas en animales.

Debido a su alta LET, las partículas α no penetran profundamente en los tejidos, y esto hace que sea casi imposible detectar directamente las emisiones de partículas α en muestras biológicas. De ello se deduce que los estudios de biodistribución o de imágenes con ^{225}Ac son extremadamente arduos. Recientemente, algunos estudios de investigación informaron intentos de detectar y localizar el sitio blanco *in vivo* de radiofármacos de ^{225}Ac en modelos animales mediante la adquisición de imágenes con un escáner dedicado para pequeños animales^(30,31). Como se discutió anteriormente, estas imágenes planares se obtienen necesariamente detectando los fotones gamma emitidos por las desintegraciones de los hijos ^{221}Fr y ^{213}Bi , a menos que se utilice como sustituto el isótopo emisor α ^{227}Ac ⁽³²⁾. Por lo tanto, este método de localización de ^{225}Ac se ve cuestionado por el hecho de que es poco probable que la posición observada de la fuente γ de ^{221}Fr se superponga exactamente al sitio original de localización del radiofármaco de ^{225}Ac , debido al fuerte efecto retroceso a que puede desplazar el radionucleido hijo del agente quelante bifuncional después del proceso de desintegración. De ello se deduce que la señal observada en imágenes planares no refleja necesariamente el verdadero comportamiento de biodistribución del ^{225}Ac -DOTA-fármaco inicial. El mismo argumento se aplica a la detección de ^{213}Bi .

La Cerenkov Luminescence Imaging (CLI) también se ha propuesto como modalidad de imagen para TAT⁽³³⁾. La cadena de desintegración del ^{225}Ac incluye la emisión de partículas beta - de alta energía, y estos electrones acelerados pueden generar

radiación Cerenkov. Por lo tanto, es posible obtener imágenes de estos radionucleidos mediante CLI⁽³³⁻³⁵⁾. Algunos autores argumentaron que 10 horas después de la inyección del radiofármaco de ²²⁵Ac se establecerá el equilibrio entre ²²⁵Ac y sus hijos emisores beta - y la cantidad de fotones Cerenkov que se pueden visualizar sería suficiente para adquirir imágenes de la localización de radionucleidos en órganos blanco y no blanco con la tecnología disponible^(28,35).

Evidentemente, este procedimiento no se puede aplicar en estudios con animales a momentos tempranos, incluso si todos los radionucleidos hijos permanecen en el sitio blanco. En consecuencia, los resultados sólo podrían servir para estudios preliminares cualitativos *in vivo* [por ejemplo, para comparar la biodistribución en dos regiones de interés (ROI) dentro del mismo modelo experimental de ratón o para estimar aproximadamente la relación tumor-no tumor, al mismo tiempo post inyección (p.i.), en el mismo espécimen biológico], pero no permite obtener información cuantitativa.

Sin embargo, cabe señalar que varios radionucleidos emisores α , incluido el ²²⁵Ac, tienen períodos de semidesintegración de una semana o más. Por lo tanto, la cantidad de actividad administrable es baja, implicando que la adquisición de imágenes a partir de un débil flujo de fotones es prácticamente un gran desafío, y requeriría el desarrollo de dispositivos de imágenes de alta sensibilidad⁽³⁶⁾. Esto sugiere que las imágenes cuantitativas con CLI aún están lejos de convertirse en una herramienta confiable para la estimación de dosimetría *in vivo*.

Biodistribución del ión ²²⁵Ac

A pesar de la falta de un procedimiento de control de calidad riguroso y confiable basado en GMP para los radiofármacos de ²²⁵Ac, muchos autores (incluidos científicos de gran reputación) persisten en defender el uso de radiofármacos de ²²⁵Ac en ensayos clínicos en humanos. Podría ser útil recordar que un control de calidad riguroso es obligatorio para todos los demás radiofármacos y es el único procedimiento científicamente reconocido capaz de revelar la identidad química de un radiofármaco que, a su vez, es esencial para establecer la estabilidad, biodistribución, farmacodinamia y farmacocinética de un compuesto radiomarcado. Esta actitud controvertida y poco ética por parte de la comunidad de radiofarmacia y medicina nuclear es difícil de justificar y puede amenazar la confianza del público en la ciencia. Por lo tanto, es difícil legitimar los diversos estudios clínicos en humanos con ²²⁵Ac informados hasta ahora. En particular, los dos compuestos [²²⁵Ac]Ac-DOTA-TATE y [²²⁵Ac]Ac-DOTA-PSMA que han sido investigados para la terapia de tumores neuroendocrinos (NET) y cáncer de próstata metastásico resistente a la castración (mCRPC), respectivamente.

Los resultados publicados aún están en debate y no respaldan de manera convincente la eficacia de estos tratamientos basados en ²²⁵Ac. Una pregunta muy intrigante está siempre relacionada con la estabilidad química de los conjugados de [²²⁵Ac]Ac-DOTA ya que, como se mencionó anteriormente, se ha reconocido que el ligando macrocíclico DOTA no es el agente quelante óptimo para ²²⁵Ac. Por lo tanto, la estabilidad en solución fisiológica de los complejos de [²²⁵Ac]Ac-DOTA no solo se ve desafiada por el efecto retroceso, sino más importante, por su labilidad cinética intrínseca.

Esta inestabilidad química explica muy bien el comportamiento biológico observado de los complejos de [²²⁵Ac]Ac-DOTA tanto en modelos animales como en humanos. Los primeros estudios de biodistribución con el radioisótopo emisor α ²²⁷Ac revelaron que el catión [²²⁷Ac]Ac³⁺ es retenido principalmente en el hígado y los huesos después de la inyección intravenosa⁽²²⁾. De forma similar, la acumulación de [²²⁵Ac]Ac³⁺ en el hígado y el esqueleto puede tomarse como un signo de la producción de iones Ac³⁺ libres como consecuencia de su liberación del quelante DOTA. En ensayos clínicos con humanos, es imposible visualizar la biodistribución de ²²⁵Ac debido a la ausencia de emisión gamma y, por lo tanto, un enfoque común es esperar a que se logre el equilibrio radioquímico entre ²²⁵Ac y su hijo emisor gamma, ²¹¹Fr, para detectar una señal. Sin embargo, persiste la pregunta de si la estructura molecular del complejo metálico se conserva hasta que se alcanza el equilibrio secular y después de la emisión de la primera partícula α . Evidentemente, la ruptura del conjugado metálico conduce inevitablemente a la pérdida de su afinidad por el blanco biológico. Aunque un número significativo de estudios aún continúa afirmando la estabilidad del sistema quelante ²²⁵Ac-DOTA, pero sin resolver el enigma de la determinación rigurosa de la identidad química de los radiofármacos de ²²⁵Ac, los datos disponibles indican claramente que la estabilidad química del [²²⁵Ac]Ac-DOTA-conjugado está grandemente comprometida en solución acuosa y en suero, con la consiguiente pérdida de iones Ac³⁺ libres del quelante DOTA^(16,17). Podría decirse que la labilidad química intrínseca del grupo [²²⁵Ac]Ac-DOTA se remonta al origen de la toxicidad hematológica frecuentemente observada en pacientes tratados con [²²⁵Ac]Ac-DOTATATE y a la amplia captación en las metástasis óseas encontradas en pacientes con cáncer de próstata (PC). Paradójicamente, la fuga de iones [²²⁵Ac]Ac³⁺ libres del macrociclo DOTA y su subsiguiente deposición en los huesos ha demostrado algunos resultados beneficiosos en pacientes con PC muy afectados por lesiones óseas metastásicas. En este sentido, el efecto paliativo provocado por la acumulación de [²²⁵Ac]Ac³⁺ libre en los huesos puede verse como un sustituto del provocado por el radiofármaco emisor α ²²³Ra (XoFigo)^(37,39).

Directivas, guías y recomendaciones internacionales

La guía para la realización de estudios con radiofármacos (OIEA) recomienda que se realicen estudios de dosimetría preclínica utilizando métodos MIRD (Medical Internal Radiation Dosimetry) para estimar la máxima actividad tolerable que se inyectará en los ensayos clínicos iniciales con radiofármacos⁽⁴⁰⁾. Este enfoque puede contribuir a identificar órganos potenciales en riesgo y evaluar el umbral de dosis por encima del cual puede surgir una carga radioactiva para el paciente. El método MIRD requiere la determinación de las curvas tiempo-actividad 'A(t) (TAC)' medidas en cada órgano del modelo animal que muestra la captación fisiológica.

Evidentemente, la ausencia de emisión gamma en los radiofármacos de ^{225}Ac , hace muy arduo construir las TACs, considerando también que las directrices de la FDA para la realización de estudios no clínicos con radiofármacos terapéuticos exigen que la biodistribución, la estimación de la actividad y la dosis absorbida en los órganos incluyan la cascada completa de desintegración radiactiva.

Vale la pena señalar aquí que el artículo 56 de la Directiva 2013/59/EURATOM, afirma que “Para toda exposición médica de pacientes con fines radioterapéuticos (incluida la medicina nuclear terapéutica, ver Capítulo II, Definiciones), las exposiciones de los volúmenes blanco deberán ser planificadas individualmente y su entrega apropiadamente verificada teniendo en cuenta que las dosis a volúmenes y tejidos no blanco serán tan bajas como sea razonablemente posible...”.

Un documento de posición de la Asociación Europea de Medicina Nuclear (EANM)⁽⁴¹⁾ sobre este artículo 56, afirma que para los procedimientos terapéuticos no estandarizados de medicina nuclear clasificados como Nivel 3, “el cumplimiento es la prescripción de una actividad administrada calculada para entregar una dosis absorbida deseada a una región de tratamiento u órgano en riesgo y es apropiado en ámbitos de investigación para desarrollar nuevas metodologías dosimétricas con el fin de predecir mejor la respuesta o la toxicidad”.

Conclusión

Desde su primera introducción, el concepto de terapia alfa ha despertado un gran interés y grandes esperanzas de que finalmente se haya encontrado la "bala mágica" para curar el cáncer. No hay duda de que, de las posibles formas de radiación, la emisión de partículas α podría convertirse potencialmente en la herramienta más eficaz para hacer realidad el principio plasmado en la estrategia de terapia dirigida con radionucleidos (TRT).

Sin embargo, el enfoque basado en la terapia alfa dirigida no puede considerarse intrínsecamente válido por el simple hecho de que utiliza partículas α , porque se deben cumplir otros requisitos fundamentales para desarrollar una terapia verdaderamente eficaz contra los tumores.

En este contexto, el ejemplo del radiofármaco ^{223}Ra introducido en la práctica clínica para el tratamiento de pacientes con mCRPC merece un análisis más preciso. Más de una década después de su aprobación clínica, el ^{223}Ra no ha logrado proporcionar el primer ejemplo de "bala mágica" para la TAT del cáncer de huesos. El efecto principal de la administración de ^{223}Ra es paliativo y no verdaderamente terapéutico, como lo refleja la sobrevida global (OS; criterio principal de valoración de eficacia) de los pacientes tratados que, solo excede en aproximadamente 3.6 meses a la de los no tratados⁽⁴²⁾. Este resultado es paralelo a la observación de que, en el subgrupo de pacientes que no recibieron docetaxel antes del tratamiento, no hubo diferencias significativas en el tiempo al primer evento esquelético sintomático (SSE; criterio secundario de valoración de eficacia) entre pacientes tratados con ^{223}Ra y no tratados (17.5 m y 19.0 m respectivamente)⁽⁴³⁾. Las razones de este fallo ahora se comprenden bien y ya habían sido destacadas por investigaciones básicas mucho antes de la aprobación del radiofármaco por parte de las autoridades regulatorias. De hecho, siempre se ha sabido universalmente que, para ser verdaderamente eficaz, la TAT exige que se cumpla un requisito previo esencial, a saber, que el radiofármaco emisor α sea internalizado por las células cancerosas blanco, posiblemente en las proximidades del núcleo. Por el contrario, el ion radioactivo ^{223}Ra no ingresa a las células malignas del tumor óseo, sino que se deposita en el tejido normal circundante cuyo crecimiento es estimulado por el proceso inflamatorio asociado con la presencia de la lesión neoplásica. Dadas estas premisas, parece muy poco probable que la TAT con ^{223}Ra pueda ejercer todo su potencial terapéutico; sin embargo, inexplicablemente, el ^{223}Ra fue rápidamente aprobado por muchas autoridades regulatorias de todo el mundo para el tratamiento del cáncer de huesos. Considerando los efectos secundarios retardados que afectaron a numerosos pacientes tratados con ^{223}Ra , ciertamente no puede afirmarse que el primer ejemplo de TAT se viera coronado por un gran éxito.

La presión actual de la comunidad científica para promover la introducción de radiofármacos de ^{225}Ac en el uso clínico, sugiere que la comunidad de medicina nuclear no ha extraído una lección suficiente del caso ^{223}Ra . El principal inconveniente de este radiofármaco es que no se han tenido en cuenta los resultados experimentales más relevantes sobre su verdadero comportamiento biológico y su localización *in vivo*. Aparentemente, la misma conducta inadecuada y uso inapropiado de los datos experimentales aún siguen afectando al desarrollo de los radiofármacos de Ac, también teniendo en cuenta la persistente falta de un modelo computacional satisfactorio para determinar la dosimetría *in vivo* con emisores α ⁽⁴⁴⁾.

Dado que es de suma importancia considerar un equilibrio claro entre beneficios y riesgos, la presente revisión intentó revelar los principales defectos que continúan desafiando la investigación sobre radiofármacos de ^{225}Ac y proporcionar un mensaje de advertencia de que el desarrollo de un TAT de ^{225}Ac exitoso contra el cáncer, sólo podrá llevarse a cabo después de que todas las cuestiones importantes y los problemas sean adecuadamente abordados.

Referencias

01. Smith RJ, Burpee D. Radionuclide Therapies: An Overview of Applications. Radiol Technol 2021;92:595–614. PMID: 34193577
02. Stokke C, Kvassheim M, Blakkisrud J. Radionuclides for Targeted Therapy: Physical Properties. Molecules

2022;27:5429. doi: 10.3390/molecules27175429.

03. Salih S, Alkatheeri A, Alomaim W, Elliyaniti A. Radiopharmaceutical Treatments for Cancer Therapy, Radionuclides Characteristics, Applications, and Challenges. *Molecules* 2022;27:5231. doi: 10.3390/molecules27165231.
04. Parker C, Lewington V, Shore N, et al. Targeted Alpha Therapy, an Emerging Class of Cancer Agents: A Review. *JAMA Oncol* 2018;4:1765–72. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.4044.
05. Guerra Liberal FDC, O'Sullivan JM, McMahon SJ, Prise KM. Targeted Alpha Therapy: Current Clinical Applications. *Cancer Biother Radiopharm* 2020;35:404–17. doi: 10.1089/cbr.2020.3576.
06. Nelson BJB, Andersson JD, Wuest F. Targeted Alpha Therapy: Progress in Radionuclide Production, Radiochemistry, and Applications. *Pharmaceutics* 2020;13:49. doi: 10.3390/pharmaceutics13010049.
07. Makvandi M, Dupis E, Engle JW, et al. Alpha-Emitters and Targeted Alpha Therapy in Oncology: from Basic Science to Clinical Investigations. *Target Oncol* 2018;13:189–203. doi: 10.1007/s11523-018-0550-9.
08. Yang H, Wilson JJ, Orvig C, et al α -Emitting Radionuclides for Therapy: Radiolabeling Method Review. *J Nucl Med* 2022;63:5–13. doi: 10.2967/jnumed.121.262687.
09. Engle JW. Production of ²²⁵Ac. *Curr Radiopharm* 2018;11:173–9. doi: 10.1089/cbr.2018.4044.
10. Robertson AKH, Ramogida CF, Schaffer P, Radchenko V. Development of ²²⁵Ac Radiopharmaceuticals: TRIUMF Perspectives and Experiences. *Curr Radiopharm* 2018;11:156–72. doi: 10.1089/cbr.2018.4044.
11. Jiang Z, Revskaya E, Fisher DR, Dadachova E. In vivo Evaluation of Free and Chelated Accelerator-produced ²²⁵Actinium - Radiation Dosimetry and Toxicity Results. *Curr Radiopharm* 2018;11:215–22. doi: 10.1089/cbr.2018.4044.
12. Nagatsu K, Suzuki H, Fukada M, et al Cyclotron production of ²²⁵Ac from an electroplated ²²⁶Ra target. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2021;49:279–89. doi: 10.1007/s00259-021-05460-7.
13. Deblonde GJ-P, Zavarin M, Kersting AB. The coordination properties and ionic radius of actinium: A 120-year-old enigma. *Coord Chem Rev* 2021;446:214130. doi: 10.1016/j.ccr.2021.214130.
14. Thiele NA, Wilson JJ. ²²⁵Actinium for Targeted α Therapy: Coordination Chemistry and Current Chelation Approaches. *Cancer Biother Radiopharm* 2018;33:336–48. doi: 10.1089/cbr.2018.2494.
15. Dhiman D, Vatsa R, Sood A. Challenges and opportunities in developing ²²⁵Actinium radiopharmaceuticals. *Nucl Med Commun* 2022;43:970–7. doi: 10.1016/j.ccr.2021.214130.
16. Stein B, Kerlin M. Spectroscopic Studies of Highly Radioactive Elements Relevant to Targeted Alpha Therapy. *Actinide Research Quarterly*, First Quarter 2019. G. T. Seaborg Institute for Transactinium Science Los Alamos National Laboratory, pp. 7–10.
17. Wilson JJ. Investigating the Chemistry of Actinium, a Therapeutically Relevant Actinide. *Actinide Research Quarterly*, First Quarter 2019. G. T. Seaborg Institute for Transactinium Science Los Alamos National Laboratory, pp. 4–6.
18. McDevitt, MR, Ma, D, Simon, J, Frank, RK, Scheinberg, DA. Design and synthesis of ²²⁵Ac radioimmunopharmaceuticals. *Appl Radiat Isotop* 2002;57:841–7. doi: 10.1016/S0969-8043(02)00167-7.
19. Deal KA, Davis IA, Mirzadeh S, et al. Improved in vivo stability of actinium-225 macrocyclic complexes. *J Med Chem* 1999;42:2988–92. doi: 10.1021/jm990141f.
20. Khabibullin AR, Karolak A, Budzevich MM, et al. Structure and properties of DOTA-chelated radiopharmaceuticals within the ²²⁵Ac decay pathway. *Medchemcomm* 2018;9:1155–63. doi: 10.1039/c8md00170g.
21. Pallares RM, Abergel RJ. Development of radiopharmaceuticals for targeted alpha therapy: Where do we stand? *Front Med (Lausanne)* 2022;9:1020188. doi: 10.3389/fmed.2022.1020188.
22. Taylor DM. The metabolism of actinium in the rat. *Health Phys* 1970;19:411–8. doi: 10.1097/00004032-197009000-00004.
23. Kozempel J, Mokhodoeva O, Vlk M. Progress in Targeted Alpha-Particle Therapy. What We Learned about Recoils Release from In Vivo Generators. *Molecules* 2018;23:581. doi: 10.3390/molecules23030581.
24. Lawal IO, Morgenstern A, Vorster M, et al. Hematologic toxicity profile and efficacy of [²²⁵Ac]Ac-PSMA-617 α -radioligand therapy of patients with extensive skeletal metastases of castration-resistant prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2022;49:3581–92. doi: 10.1007/s00259-022-05778-w.

25. Feurecker B, Tauber R, Knorr K, et al. Activity and Adverse Events of Actinium-225-PSMA-617 in Advanced Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer After Failure of Lutetium-177-PSMA. *Eur Urol* 2021;79:343–50. doi: 10.1016/j.eururo.2020.11.013.
26. Ling SW, de Blois E, Hooijman E, et al. Advances in 177Lu-PSMA and 225Ac-PSMA Radionuclide Therapy for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *Pharmaceutics* 2022;14:2166. doi: 10.3390/pharmaceutics14102166.
27. Kleynhans J, Duatti A. The determination of the radiochemical purity of Actinium-225 radiopharmaceuticals: a conundrum. *EJNMMI Radiopharm Chem* 2022;7:23. doi: 10.1186/s41181-022-00175-y.
28. Abou DS, Zerkel P, Robben J, et al. Radiopharmaceutical Quality Control Considerations for Accelerator-Produced Actinium Therapies. *Cancer Biother Radiopharm* 2022;37:355–63. doi: 10.1089/cbr.2022.0010.
29. Kelly JM, Amor-Coarasa A, Sweeney E, et al. A suitable time point for quantifying the radiochemical purity of 225Ac-labeled radiopharmaceuticals. *EJNMMI Radiopharm Chem* 2021;6:38. doi: 10.1186/s41181-021-00151-y.
30. Robertson AKH, Ramogida CF, Rodríguez-Rodríguez C, et al. Multi-isotope SPECT imaging of the 225Ac decay chain: feasibility studies. *Phys Med Biol* 2017;62:4406–20. doi: 10.1088/1361-6560/aa6a99.
31. Benabdallah N, Scheve W, Dunn N, et al. Practical considerations for quantitative clinical SPECT/CT imaging of alpha particle emitting radioisotopes. *Theranostics* 2021;11:9721–37. doi: 10.7150/thno.63860.
32. Koniar H, Rodríguez-Rodríguez C, Radchenko V, et al. SPECT imaging of 226Ac as a theranostic isotope for 225Ac radiopharmaceutical development. *Phys Med Biol* 2022;67(18). doi: 10.1088/1361-6560/ac8b5f. PMID: 35985341.
33. [33]Ackerman NL, Graves EE. The potential for Cerenkov luminescence imaging of alpha-emitting radionuclides. *Phys Med Biol* 2012;57:771–83. doi: 10.1088/0031-9155/57/3/771.
34. Krasniqi FS, Kerst T, Leino M, et al. Standoff UV-C imaging of alpha particle emitters. *Nuclear Inst. and Methods in Physics Research, A*, 2021;987:164821. doi: 10.1016/j.nima.2020.164821.
35. Pandya DN, Hantgan R, Budzevich MM, et al. Preliminary Therapy Evaluation of 225Ac-DOTA-c(RGDyK) Demonstrates that Cerenkov Radiation Derived from 225Ac Daughter Decay Can Be Detected by Optical Imaging for In Vivo Tumor Visualization. *Theranostics* 2016;6:698–709. doi: 10.7150/thno.14338.
36. Seo Y. Quantitative Imaging of Alpha-Emitting Therapeutic Radiopharmaceuticals. *Nucl Med Mol Imaging* 2019;53:182–8. doi: 10.1007/s13139-019-00589-8.
37. Vaidyanathan G, Zalutsky MR. Applications of 211At and 223Ra in targeted alpha-particle radiotherapy. *Curr Radiopharm* 2011;4:283–94. doi: 10.2174/1874471011104040283.
38. Sindhu KK, Nehlsen AD, Stock RG. Radium-223 for Metastatic Castrate-Resistant Prostate Cancer. *Pract Radiat Oncol* 2022;12:312–6. doi: 10.1016/j.prro.2022.03.004.
39. European Medicines Agency (EMA). PRAC assessment report EMA/540557/2018. www.ema.europa.eu/documents/referral/xofigo-article-20-procedure-prac-assessment-report_en.pdf.
40. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Guidance for Preclinical Studies with Radiopharmaceuticals, IAEA Radioisotopes and Radiopharmaceuticals Series No. 8, IAEA, Vienna (2023).
41. Konijnenberg M, Herrmann K, Kobe C, et al. EANM position paper on article 56 of the Council Directive 2013/59/Euratom (basic safety standards) for nuclear medicine therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2021;48:67–72. doi.org/10.1007/s00259-020-05038-9.
42. PRODUCT MONOGRAPH XOFIGO® (radium Ra 223 dichloride solution for injection). 2022, Bayer Inc (<http://www.bayer.ca>).
43. Hoskin P, Sartor O, O'Sullivan JM, et al. Efficacy and safety of radium-223 dichloride in patients with castration-resistant prostate cancer and symptomatic bone metastases, with or without previous docetaxel use: a prespecified subgroup analysis from the randomised, double-blind, phase 3 ALSYMPCA trial. *Lancet Oncol* 2014;15:1397–406. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70474-7.
44. Tronchin S, Forster JC, Hickson K, Bezak E. Dosimetry in targeted alpha therapy. A systematic review: current findings and what is needed. *Phys Med Biol* 2022;67(9). doi: 10.1088/1361-6560/ac5fe0.