

# Příprava radiofarmak, stanovení radiochemické a radionuklidové čistoty

K. Altmanová – Gymn. Dr. J. Pekaře, Palackého 211, Ml. Boleslav  
H. Vičarová, K. Zádrapová – Gymnázium a SOŠZZE Vyškov  
Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská ČVUT  
[katerina@altmanovi.cz](mailto:katerina@altmanovi.cz), [hana.vicarova@gmail.com](mailto:hana.vicarova@gmail.com),  
[karolina.zadrapova@gmail.com](mailto:karolina.zadrapova@gmail.com)

## Abstrakt

Cílem miniprojektu je příprava a kontrola kvality jednoho typu radiofarmaka s obsahem  $^{99m}\text{Tc}$ . Radiofarmakum je látka obsahující nuklid s nestabilním jádrem a používá se zejména v nukleární medicíně (sloučeniny  $^{99m}\text{Tc}$  - SPECT, scintigrafie). Náš projekt se zabývá konkrétně konjugátem  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ .

Nejprve jsme vymyly  $^{99m}\text{Tc}$  z radionuklidového generátoru  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$  ve formě technecistanu, dále jsme redukovaly  $\text{Tc}^{7+}$  na  $\text{Tc}^{5+}$ . Následně jsme stanovily radiochemickou čistotu pomocí PC/TLC, radionuklidovou čistotu zjišťujeme pomocí měření  $\gamma$ -spektra eluátu  $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$  z generátoru polovodičovým detektorem.

## 1 Úvod

Při našem bádání se aktivně zabýváme problematikou výroby radiofarmak. Snažíme se přiblížit postupy celého procesu od prvopočátku až po hotové léčivo. Naším cílem je prohloubení znalostí v oblasti radiochemie, farmacie a medicíny. Konkrétně se zabýváme výrobou radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$ .

Látku nejprve eluujeme z generátoru  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ , připravujeme ji do lékařského kitu ( $\text{MAG}_3$ ). Radiochemickou čistotu stanovujeme pomocí chromatografie na papíře (Whatman 1) a tenké vrstvě, na stanovení radionuklidové čistoty využíváme mnohokanálový analyzátor ORTEC s koaxiálním polovodičovým detektorem PGT PIGC -22.

Vypočítáváme poločas rozpadu látek v generátoru. Další výpočet je v závislosti na radiochemické čistotě. Zjišťujeme hodnoty retenčního faktoru ( $R_f$ ) přítomných nečistot. Na závěr sumarizujeme celý projekt a zhodnocujeme výsledky.

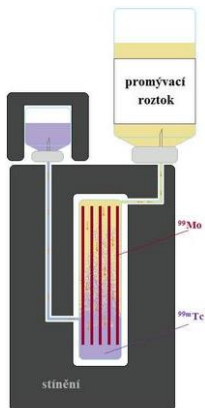
## 2 Příprava a kontrola radiofarmak

K přípravě radiofarmak jsme použili generátor  $^{99m}\text{Tc}$ , lékařský kit  $\text{MAG}_3$ . Aby se radiofarmaka mohla využít v praxi při léčbě, nebo diagnostickém vyšetření, musela být provedena kontrola radiochemické a radionuklidové čistoty.

### Radionuklidový generátor

Radionuklidový generátor slouží k přípravě radionuklidů používaných v lékařství. Je důležité dodržovat podmínku, aby původní (mateřský) radionuklid měl několikrát delší poločas rozpadu než následně použitý radionuklid (dceřiný).

**Obr. 1 Složení generátoru** <sup>[2]</sup> - zde je fixován mateřský nuklid. Dceřiný nuklid je postupně uvolňován a vymyvan promývacím roztokem. Kolona je umístěna v tlustém stínění, spoje roztoku s kolonou nesmí být přímé, aby nedošlo k pronikání radioaktivního záření.<sup>[1]</sup>



Výhodou je přijatelná cena, dobrá manipulace a dostupnost. Naopak nevýhodné je nutnost stálého stínění a snižující se aktivita.

Metody využívané k separaci dceřiného radionuklidu od mateřského jsou sloupcová chromatografie na  $Al_2O_3$ , extrakce methylethylketonem, sublimační technika a eluce molybdenových gelů (tj. chromatografická metoda).

K našim úkolům používáme radionuklidový generátor  $^{99}Mo/^{99m}Tc$ . V koloně je umístěn  $^{99}Mo$  (poločas rozpadu je 66 h), z něhož získáváme nejvyužívanější radionuklid  $^{99m}Tc$  používaný k přípravě radiofarmak.  $\beta^-$  přeměnou vznikne z mateřského  $^{99}Mo$  dceřině  $^{99m}Tc$  (metastabilní stav jádra s energeticky vyšší úrovní). Technecium se uvolní z kolony a je rozpuštěno ve fyziologickém roztoku 0,9% NaCl. Další používané generátory jsou například  $^{81}Rb/^{81m}Kr$ ,  $^{68}Ge/^{68}Ga$ .

## Radiofarmaceutický kit

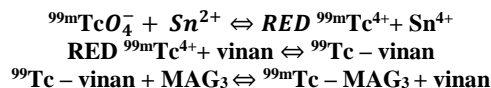
Jedná se o farmaceutický přípravek, který při spojení s radionuklidem vytváří diagnostické nebo terapeutické radiofarmakum. Obvykle se do radionuklidu přidává těsně před podáním léku pacientovi. Obsah kitu před přípravou není radioaktivní.

Použili jsme kit  $MAG_3$  obsahující lyofilizát S-benzoyl- $MAG_3$ , vinan sodný a chlorid cínatý jako redukční činidlo.

## Výroba radiofarmak

Radiofarmaka z kitů a radionuklidu musí být připravována postupem vyhovujícím předpisům o radiační ochraně a požadavkům pro zajištění kvality léčiv.

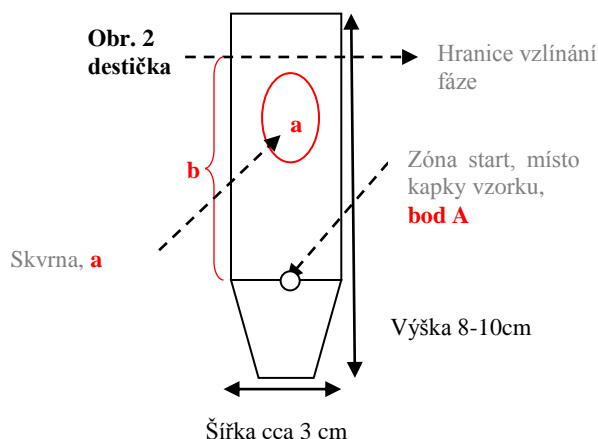
Evakuované lahvičky s eluovaným  $Na^{99m}TcO_4$  (technecistan sodný) získaný z generátoru přidáme ke kitu  $MAG_3$  a dojde k redukci  $Tc^{7+}$  pomocí  $Sn^{2+}$  za vzniku  $Tc^{5+}$  a vinanového komplexu. Zahřátím ampule reakční směsi ve vodní lázni vznikne  $^{99m}Tc-MAG_3$ .



Důležité je stanovit přesné množství aktivity a radionuklidové čistoty, aby se dala posoudit radiační zátěž na pacienta a objektivní posouzení vyšetření.

## Radiochemická čistota

Radiochemickou čistotu -  $P_{RCH}$  je možné stanovit pomocí TLC (= tenkovrstvá chromatologie). Je to poměr radioaktivity daného radionuklidu -  $A_i$  v radiofarmaku k celkové radioaktivitě, vyjádřeno v procentech.



$$P_{RCH} = \frac{A_i}{\sum_{i=1}^n A_i}$$

Radiochemickou čistotu ověřujeme na třech různých materiálech. Jako první máme papír, druhým materiálem je deska se silikagelem, třetí deska s reversní fází. Připravíme si destičky (obr. 2), asi dva centimetry od spodního okraje vyznačíme

rovnou čáru tužkou – to je naše zóna start. Snažíme se trefit doprostřed kapkou vzorku, který nanášíme pomocí tenké kapiláry. Ideální objem naneseného množství je asi 1μl. Pomocí fénu každý vzorek usušíme a ponoříme dolní okraj do kádinky s mobilní fází. Mobilní fáze je ve vyvíjecí komoře pouze na dně, a proto nedojde k vymytí vzorku. Fáze vzlíná. Radiochemické nečistoty mohou pocházet např. z výroby radionuklidu, z chemických změn při jeho uchovávání apod.

Když vzlínání dostoupí několik mm pod okraj vzorku, vyjmeme jej a znovu usušíme. Vzorek zpracováváme pomocí AR 2000 a pomocí poloh skvrn chromatogramu určíme retenční faktor  $R_f$ .

$$R_f(A) = \frac{a [\text{mm}]}{b [\text{mm}]} < 1$$

Nutno ještě podotknout, že hodnoty  $R_f$  se v publikacích běžně neuvádějí, pokud jsou uvedeny je nutné je přijímat s určitou rezervou a menší odchylky od zveřejněných hodnot nejsou chybou experimentátora. Hodnota  $R_f$  závisí nejen na látce a mobilní fázi a typu sorbentu, ale může se poněkud lišit i na jednom typu sorbentu vlivem různé zrnitosti, sféricity, aktuální vlhkosti přítomné v silikagelu apod. Stejně tak i čistota či obsah vody v použitých rozpouštědlech mohou hodnotu  $R_f$  poměrně významně ovlivnit.<sup>[3]</sup>

## Radionuklidová čistota

Radionuklidová čistota je poměr radioaktivity daného radionuklidu a celkové radioaktivity radiofarmaka, vyjádřený v procentech.<sup>[4]</sup>

$$P_{RN} = \frac{N_{i,m}}{\sum_{j=1}^n N_j}$$

Radionuklidová čistota je stanovována měřením  $\gamma$ -spektra eluátu  $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ . Vzorek měřen na mnoha kanálovém analyzátoru ORTEC s koaxiálním polovodičovým detektorem PGT PIGC – 22.

## 3 Výsledky

**ÚKOL 1:** Dostaly jsme generátor, který měl dne 7. 6. v 12:00 hodnotu 30GBq. Odebrání probíhalo 17. 6. v 12:00 hodin. Jaká je aktuální hodnota?

**VÝSLEDEK 1:** (hodnota radioaktivity v generátoru)

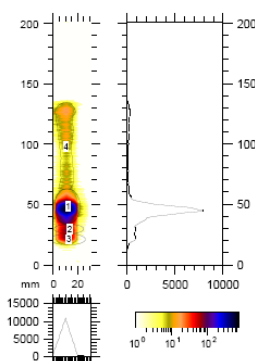
den	čas	Doba rozpadu	Stav rozpadu
7. 6. 2013 (plnění)	12:00	-	$\frac{30}{2^0}$ GBq
12. 6. 2013	12:00	5 dnů (120h)	$\frac{30}{2^5}$ GBq
15. 6. 2013	00: 00	7,5 dnů (180h)	$\frac{30}{2^7}$ GBq
<b>17. 6. 2013</b>	<b>12:00</b>	<b>10 dnů (240h)</b>	$\frac{30}{2^8}$ GBq

Hodnota naměřená izotopovým kalibrátorem (proporcionální ionizační komora) byla 2,04 GBq. Teoretickou počítáme. Víme, že poločas rozpadu  $^{99}\text{Tc}$  je 2,5 dne (= 60h). (Dále viz tabulka)

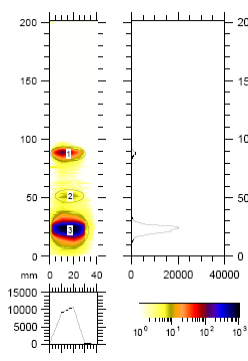
Experimentálně změřená hodnota dozimetrem je 2,04 GBq. Námí vypočítaná hodnota je  $\frac{30}{2^8}$  GBq = 1,875 GBq. Odchylka je 8,1 %

### VÝSLEDEK 2: (Měření $R_f$ )

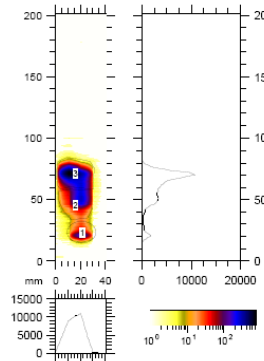
Obr. 3 - papír



Obr. 4 - silikagel



Obr. 5 – reversní fáze



Obr. 3-5  
Snímky z přístroje Ar 0200  
(zpracováno z Win-Scan2D)

*Obr. papír	3	Hodnoty (mm)	$R_f(A) = \frac{a \text{ [mm]}}{b \text{ [mm]}}$	Obr. silikagel	4	Hodnoty (mm)	$R_f(A) = \frac{a \text{ [mm]}}{b \text{ [mm]}}$	Obr. rever.f.	5	Hodnoty (mm)	$R_f(A) = \frac{a \text{ [mm]}}{b \text{ [mm]}}$
b		113	Výsledky:	b		75	Výsledky:	b		68	Výsledky:
a <sub>1</sub>		25	R <sub>f1</sub> : 0,221	a <sub>1</sub>		67,9	R <sub>f1</sub> : 0,905	a <sub>1</sub>		0,3	R <sub>f1</sub> : 0,004
a <sub>2</sub>		8,6	R <sub>f2</sub> : 0,076	a <sub>2</sub>		30,8	R <sub>f2</sub> : 0,410	a <sub>2</sub>		30,5	R <sub>f2</sub> : 0,448
a <sub>3</sub>		1,2	R <sub>f3</sub> : 0,010	a <sub>3</sub>		3,5	R <sub>f3</sub> : 0,046	a <sub>3</sub>		49,3	R <sub>f3</sub> : 0,725
a <sub>4</sub>		83,9	R <sub>f4</sub> : 0,747	-		-	-	-		-	-

\*a, b viz obr. 2

## 4 Diskuze

Výpočet radioaktivity v generátoru se lišil odchylkou asi 8,1%. Při měření bylo v laboratoři spousta dalších věcí ovlivňující izotopový kalibrátor, proto experimentálně naměřená radioaktivita byla o něco vyšší. Výrobce mohl na začátku přidat více radioaktivního mateřského radionuklidu.

V případě retenčních faktorů nám vycházeli různé hodnoty na různých materiálech, i když jsme testovali stejnou látku. Bylo to nejspíše způsobené tím, že každý vzorek vypracovával jiný člověk a všechny z nás se do takového procesu začlenily poprvé.

## 5 Shrnutí

Výroba radiofarmak je vysoce citlivá na výrobní postup, který musí do poslední tečky odpovídat lékopisu a výrobním předpisům. Jde především o bezpečnost pacienta a lidí, co s farmakem pracují.

Nepodařilo se nás sice prokázat čistotu látky, kterou jsme vyrobily, ale vcelku dobře se nám podařilo počítání s poločasem rozpadu u technecia. Projekt pro nás byl velikým přínosem a doufáme, že zde nabyté vědomosti uplatníme v budoucnosti. A kdo ví, třeba i v našem budoucím povolání.

## 6 Poděkování

Děkujeme vedoucím našeho projektu - RNDr. Ján Kozempel, Ph. D. a RNDr. Martin Vlk, za investovaný čas a za neuvěřitelnou trpělivost, s jakou nám vše vysvětlovali. Snažili se nám vše podat takovým způsobem, abychom to pochopily.

## Reference:

- [1] WIKIPEDIE: *Radiofarmaka*, 2013. <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Radiofarmaka>
- [2] Obr. 1: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Tc-generator.png>
- [3] KATEDRA JADERNÉ CHEMIE FJFI ČVUT: *Chromatografie značených sloučenin*, FJFI ČVUT 2013, <http://www.fjfi.cvut.cz/kjch/materialy/RCHP/Chroorg.PDF>, str. 3
- [4] KOHLÍČKOVÁ, M., JEDINÁKOVÁ-KŘÍŽOVÁ, V., MELICHAR, F.: *Chem. listy* 1998 **92**, 643