

Značení ligandů ^{68}Ga pro medicínské aplikace

B. Cihlová, Akademické gymnázium, Praha,
bara.cihlova2017@agstepanska.cz

L. Janská, Gymnázium a SOŠ Plasy, lenka-janska@seznam.cz

H. Petrářová, První soukromé jazykové gymnázium Hradec Králové,
petranova.helena@gmail.com

Abstrakt:

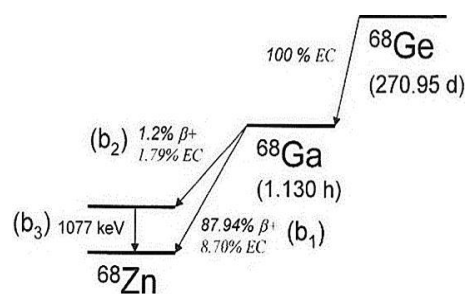
Radiofarmaka značená ^{68}Ga se používají k diagnostice onemocnění v nukleární medicíně. Zdrojem ^{68}Ga je eluát ($^{68}\text{GaCl}_3$), získaný z radionuklidového generátoru $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$. Eluát je následně použit pro značení azamakrocyclických ligandů (např. DOTA, NOTA). Připravené komplexy lze použít přímo jako radiofarmakum nebo navázat na různorodé látky (proteiny, nanočástice aj.). Cílem miniprojektu bylo stanovení optimálních reakčních podmínek pro značení ligandu NOTA. Komplexační činidlo se nám podařilo kvantitativně označit ^{68}Ga za stanovených reakčních podmínek.

1 Úvod

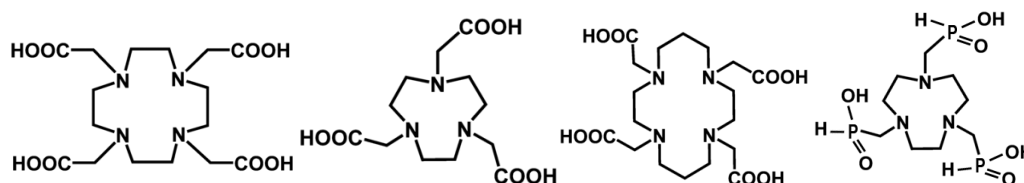
Galium-68 (^{68}Ga) je pozitronový zářič s poločasem přeměny 68 minut, který je díky krátkému poločasu přeměny vhodným β^+ zářičem pro využití v pozitronové emisní tomografii (PET) [1].

^{68}Ga se přeměňuje na stabilní zinek (^{68}Zn) emisí pozitronu při β^+ přeměně (Obr. 1). V těle pacienta pozitron urazí jen několik málo milimetrů a anihiluje s elektronem za vzniku dvou fotonů o energii 511 keV. Fotony odlétají v přímém úhlu 180° a jsou zachyceny koincidenčně, na detektorech rozmístěných kolem pacienta.

Hlavním zdrojem galia-68 je radionuklidový generátor, který využívá kratšího poločasu přeměny dceřiného radionuklidu, než má radionuklid mateřský. Mateřský radionuklid germanium-68 (^{68}Ge) je imobilizován na sorbentu (např. oxid titaničitý) a postupnou elucí dochází k vymývání galia-68 [2]. Získaný eluát ($^{68}\text{GaCl}_3$) lze využít ke značení např. makrocyclických ligandů [3]. Kationt kovu $^{68}\text{Ga}^{3+}$ je zakomplexován vhodným ligandem. Mezi využívané komplexační činidla patří např. NO2A- P^{BP} a azamakrocyclické ligandy jako DOTA, NOTA, TETA, TRAP (Obr. 2).



Obr. 1 Rozpadové schéma ^{68}Ge .
EC – electron capture



Obr. 2 Struktury sloučenin v pořadí DOTA, NOTA, TETA, TRAP

V nukleární medicíně slouží ligandy jako nosiče radionuklidu při výrobě radiofarmak, tj. radioaktivně označených léčiv např. [^{68}Ga]-DOTATOC. Takto označený ligand se naváže na specifickou látku (tzv. vektor), která zajistí navázání na protein v cílené části těla. Vektory jsou často např. nanočástice (NP) nebo protilátky navázané pomocí vhodného můstku linker/spacer, které se mohou selektivně vázat na některé nádorové tkáně. Značení galiem-68 je zvláště vhodné pro PET zobrazování neuroendokrinních nádorů s využitím označených analogů somatostatinových receptorů [1]. Zatím není využíván na odděleních nukleární medicíny v České republice.

Tento miniprojekt se věnuje eluci radionuklidového generátoru $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ a následnému značení ligandu NOTA získaným eluátem za námi zvolených podmínek.

2 Přístroje, pomůcky a chemikálie

Přístroje: Canberra AR 2000 – TLC skener, laboratorní vibrační míchačka, generátor $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, pH metr, ionizační komora, termostatovaný blok

Chemikálie: ligand NOTA, kyselina citronová, acetátový pufr, kyselina chlorovodíková

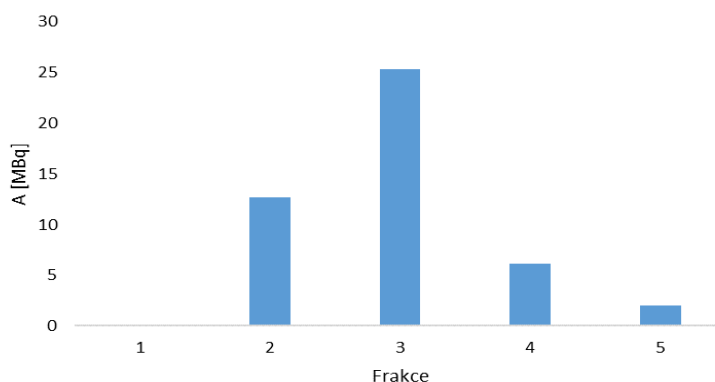
Pomůcky: TLC desky a vyvíjecí komůrky, vialky, automatické pipety

3 Postup práce

Úkoly:

1. Provedení eluce generátoru $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$
2. Provedení značení ligandu při zvoleném pH
3. Stanovení optimálních podmínek značení ligandů pomocí TLC

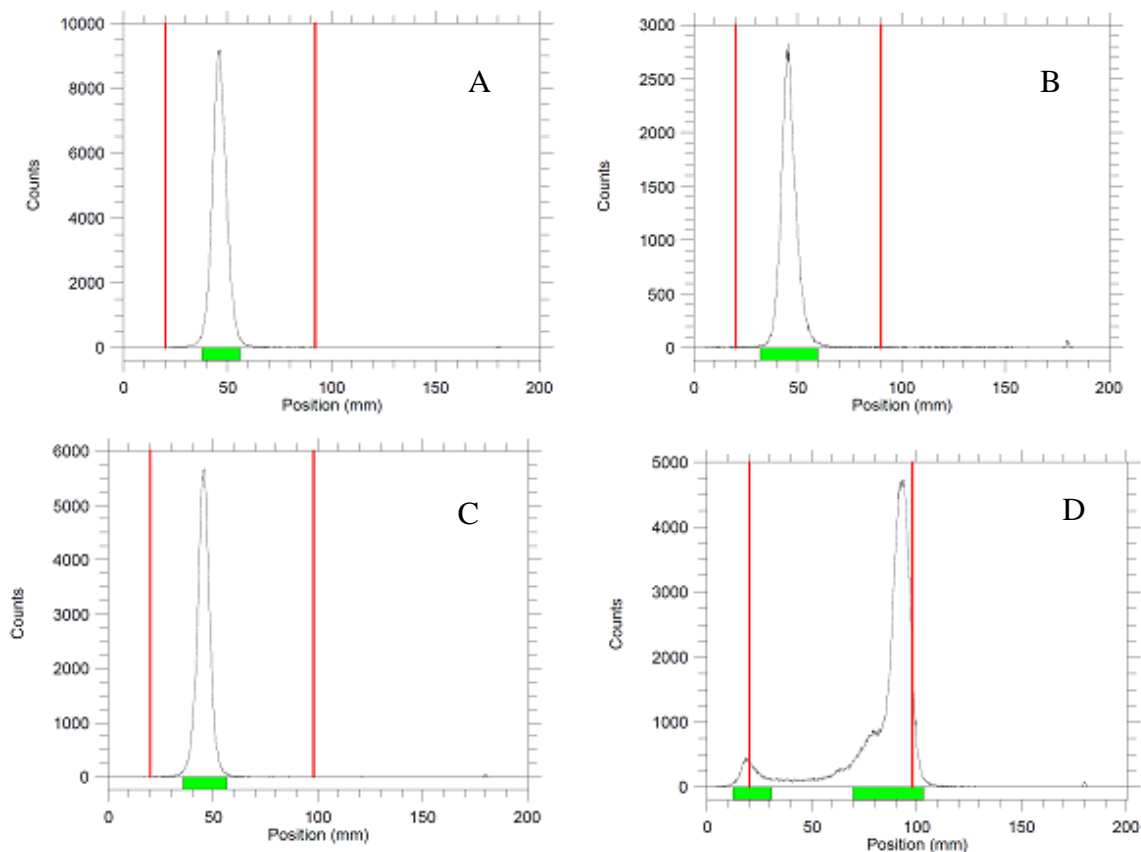
Do zavíracích mikrozkušavek jsme napipetovaly 1 ml acetátového pufru (pH 3,5; 4,5; 5,5), 50 μl ligandu NOTA (koncentrace 1 mg/ml). V další fázi jsme provedly frakcionovanou eluci (Obr. 3) generátoru $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ pomocí 0,1M kyseliny chlorovodíkové. Z pěti frakcí jsme vybraly vialku (1 ml) s největší aktivitou, ($A = 25,3 \text{ Bq}$). Následně jsme ke každému vzorku přidaly 250 μl eluátu ($^{68}\text{GaCl}_3$) a změřily jejich aktivitu. Vzorky jsme vložily do termostatovaného bloku a ponechaly inkubovat při teplotě 95 $^{\circ}\text{C}$ po dobu 15 minut. Připravily jsme si čtyři TLC desky, na tři jsme nanasly 10 μl každého vzorku a na poslední 10 μl standardu (eluátu). TLC desky byly vyvíjeny v 0,1M kyselině citronové, která sloužila jako mobilní fáze. Poté jsme provedly radiochemickou detekci TLC desek na přístroji AR 2000 – TLC skener. Na závěr jsme změřily pH každého vzorku (Tab. 1), při kterém probíhala komplexace ligandu s galiem-68.



Obr. 3: Graf frakcionované eluce

Tab. 1: Naměřené hodnoty pH acetátového pufru, A_{vz} - aktivita vzorku, pH směs - pH reakční směsi při značení, G - výtěžky značení

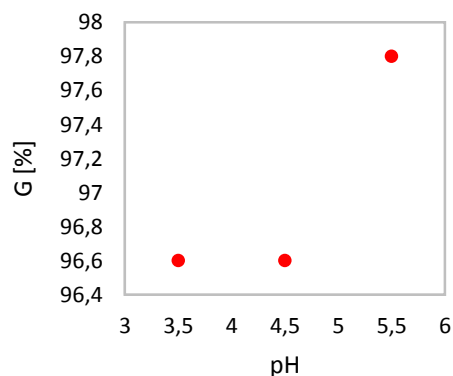
pH pufr	A_{vz} [MBq]	pH směs	G [%]
3,5	5,9	1,2	96,6
4,5	5,9	3,5	96,9
5,5	5,9	4,6	97,8



Obr. 4: Chromatogramy komplexace ligandu NOTA a ^{68}Ga při zvolených pH: A - pH 3,5; B - pH 4,5; C - pH 5,5; D standard

4 Diskuse

V této úloze jsme se seznámili se značením ligandu NOTA galiem-68. Z přiložených chromatogramů (Obr. 4) je zřejmé, že se nám podařilo ve všech případech označit ligand NOTA za námi zvoleného pH (3,5; 4,5; 5,5) a teploty (95°C). Největší výtěžnosti (97,8 %) jsme dosáhly při pH pufru 5,5.



Obr. 5 Výtěžek značení (G) ligandu NOTA ^{68}Ga na pH pufru

Závěr

Přesvědčili jsme se, že použitý ligand NOTA je vhodný ke značení galiem-68 za námi zvoleného pH. Takto označený ligand by se mohl navázat na specifickou látku (vektor), která je schopna konkrétně zacílit požadovanou tkáň či místo, které chceme zobrazit pomocí PET.

Poděkování

Děkujeme FJFI ČVUT za možnost si vyzkoušet práci v kontrolovaném pásmu, přípravu radiofarmak a práci s generátorem $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ v rámci Týdne vědy. Za pomoc a cenné rady při vypracování tohoto miniprojektu děkujeme paní Ing. Veronice Válové.

Reference:

- [1] MUELLER, D. – BREEMAN, W. A. P. – et al.: *Radiolabeling of DOTA-like conjugated peptides with generator-produced ^{68}Ga and using NaCl-based cationic elution method* Nature, 2016, pp. 1057-1066
- [2] ROESCH F.: *Maturation of a Key Resource – The Germanium-68/Galium-68 Generator: Development and New Insights* Current radiopharmaceuticals, 2012, pp. 202-211
- [3] VELIKYAN I.: *^{68}Ga -Based Radiopharmaceuticals: Production and Application Relationship* Molecules, 2015, pp. 12914-12943