

^{99m}Tc značené léčivé přípravky pro diagnostiku v nukleární medicíně

Nikola Eva Mádlová, První soukromé jazykové gymnázium, Brandlova 875, 500 03
Hradec Králové 3, madlova.nikola@psjg-hk.cz
Edvard Sidoryk, Křesťanské gymnázium, Kozinova 1000, 102 00
Praha 10, edvard.sidoryk@seznam.cz
Petra Urgáčová, United World Collage Li Po Chun, Sai Sha Road 10, Hong Kong Ma
On Shan, petra.urgacova@gmail.com

Abstrakt:

Práce ^{99m}Tc značené léčivé přípravky pro diagnostiku v nukleární medicíně se zabývá přípravou radiofarmak, jež se uplatňují ve SPECT diagnostice onemocnění na klinikách nukleární medicíny. Zvolená radiofarmaka jsou preparáty obsahující ^{99m}Tc , jež disponuje vhodnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi pro diagnostiku v nukleární medicíně.

Praktická část miniprojektu se sestávala jak ze syntézy samotného radiofarmaka, tak z využití analytických metod, jež napomohly sledovat radiochemickou čistotu připravených sloučenin. V rámci metodiky byly využity komerčně dodávané kity. V souladu se správnou laboratorní praxí byly připraveny celkem 3 přípravky: MAG_3 kit, Nanocoll a TechnoScan DMSA, u nichž byla pomocí tenkovrstevné chromatografie ověřena radiochemická čistota. U všech sloučenin přesahovala hodnota radiochemické čistoty 96 %, což je velice zdařilý výsledek.

Úvod

Sloučeniny ^{99m}Tc jsou aplikovány v nukleární medicíně (SPECT, scintigrafie) za účelem diagnostiky širokého spektra onemocnění. Zdrojem tohoto izotopu je radionuklidový generátor ^{99}Mo - ^{99m}Tc eluovaný fyziologickým roztokem. Cílem našeho miniprojektu bylo zhotovit eluát ^{99m}Tc , použít jej pro přípravu samotného radiofarmaka a ověřit čistotu připraveného léčiva.

1 Teoretická část

1.1 Generátor ^{99}Mo - ^{99m}Tc

Radionuklidový generátor ^{99}Mo - ^{99m}Tc je systém dvou radionuklidů, mateřského ^{99}Mo a dceřiného ^{99m}Tc , jež jsou vzájemně spjaty posuvnou radioaktivní rovnováhou. V rámci našeho miniprojektu byl upotřeben generátor využívající pro separaci radionuklidů princip chromatografie.

Tento generátor je konstruován následovně: Al_2O_3 je jakožto stacionární fáze umístěn ve skleněné kolonce. ^{99}Mo je na oxidu hlinitém ukotven ve formě MoO_4^{2-} . Kolona je následně promyta 0,9% roztokem chloridu sodného, čímž je z ní vymyto ^{99m}Tc ve formě TcO_4^- [1].

1.2 Chemie značení ^{99m}Tc

Technecium je obsaženo v eluátu získaném z generátoru, vyskytuje se však ve formě $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ v oxidačním stavu 7+ a není tudíž schopno tvořit požadované sloučeniny přímo. Právě z toho důvodu jej musíme zredukovat vhodným redukčním činidlem. Nejčastěji

používanými redukčními činidly jsou např. chlorid cínatý či vlnan cínatý. Redukční činidlo je zpravidla přítomno v komerčních kitech a pro označení farmaka stačí k lyofilizátu v ampulce přidat techneciový eluát.

V rámci přípravy tzv. horkých kitů je využívána tzv. transchelatace, která je založena na rozdílné stabilitě dvou komplexních sloučenin. Jakmile je do kitu přidán technecistan, dojde k redukci Tc^{7+} a formuje se komplex slabého ligandu s ^{99m}Tc , který při zahřátí zpravidla opouští vazbu jako první a dochází k tvorbě požadovaného komplexu [1,2].

1.3 Radiochemická čistota

Radiochemická čistota je nejčastěji ověřována za použití TLC a je definována jako poměr aktivity i -tého komplexu - A_i k celkové aktivitě všech nečistot, jež jsou přítomny [3].

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

Radiochemická čistota je finálně ověřena radiochemickou detekcí, která se primárně provádí radiochromatografem, do něhož je vložena TLC deska [3].

2 Praktická část

Metodická část miniprojektu se sestávala ze syntézy radiofarmaka ^{99m}Tc a stanovení radiochemické čistoty tohoto přípravku.

2.1 Chemické látky a přístroje

V rámci praktické části byly použity specifické chemické látky a přístroje.

- **Přístroje** = TLC skener, generátor $^{99}Mo/^{99m}Tc$, ionizační komora (PTW-Curiementor 2), magnetická míchačka s ohřevem a teplotním čidlem (Ika C-MAG HS7).
- **Látky** = kit TechneScan DMSA, methylethylketon, kit Nanocoll, mobilní fáze methanol:voda 85:15, MAG₃ kit, mobilní fáze acetonitril:voda 7:3, , fyziologický roztok (roztok chloridu sodného), eluát $Na^{99m}TcO_4$, chromatografické papíru ITLC-SG, ITLS-SA a Whatman č. 1

2.2 Syntéza ^{99m}Tc značených radiofarmak

2.2.1 Eluce $^{99}Mo/^{99m}Tc$ generátoru

Technecium-99m bylo získáno elucí z generátoru $^{99}Mo-^{99m}Tc$ (viz 1.1) ve formě technecistanu. Nejprve byl sejmout ochranný kryt ze vstupní a výstupní jehly, při čemž na jehlu vstupní byla nasazena zásobní vialka s připraveným fyziologickým roztokem (0,9% roztok NaCl ve vodě). Evakuovanou eluční vialku jsme umístili do olověného stínícího krytu („kostelíku“). Následně byl kryt s ampulkou napíchnut na výstupní jehlu. Eluce byla pozorována a po jejím skončení byla vialka s eluátem v olověném krytu vyjmuta a výstupní jehla opět zakryta. Následovalo měření aktivity eluátu ionizační komorou.

2.2.2 Značení radiofarmaka

Vialka s ^{99m}Tc byla ponechána v „kostelíku“ a ampulka s příslušným kitem byla vložena do olověného krytu. Z jímací vialky byl odebrán 1 ml technecia do injekční stříkačky a došlo k měření aktivity roztoku v ní. Poté byl roztok ve stříkačce doplněn 4 ml fyziologického

roztoku. Následně byl roztok pomocí vpichu přenesen do kitu. Poté byla opět změřena aktivita a obsah lahvičky byl promíchán. Byly označeny 3 kity: TechneScan DMSA, Nanocoll a MAG_3 kit. Dva studené kity (TechneScan DMSA, Nanocoll) byly ponechány v olověných krytech a byly inkubovány po dobu 15 min, zatímco horký kit (MAG_3 kit) byl zahříván k 120 °C po dobu 15 min za pomoci přístroje Ika C-MAG HS7.

2.3 Radiochemická čistota - TLC

Pro určení radiochemické čistoty jsme použili metodu chromatografie na tenké vrstvě neboli Thin Layer Chromatography (TLC). Připravená radiofarmaka byla nanesena stříkačkou v podobě malé kapky na start TLC destičky. Ve stacionární fázi byly použity specifické chromatografické papírky vhodné pro jednotlivé kity, tedy silikagel na skleněných vláknech pro Technescan DMSA, silikagel na skleněných vláknech impregnovaných kyselinou salicylovou pro Nanocoll a Whatman č. 1 pro MAG_3 kit. Jako mobilní fázi byla použita různá rozpouštědla a to methylethylketon pro TechneScan DMSA, methanol:voda v poměru 85:15 pro Nanocoll a acetonitril:voda v poměru 7:3 pro MAG_3 . Po vyvinutí chromatogramů byly destičky naskenovány radiochromatografem a vyhodnoceny v programu WinScan.

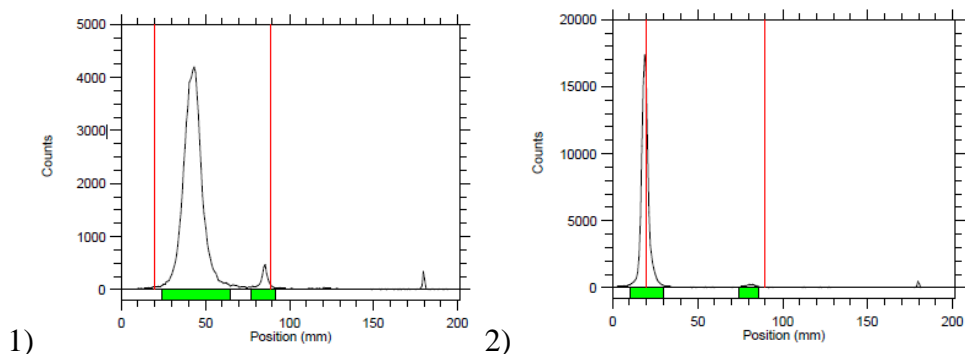
3 Výsledky

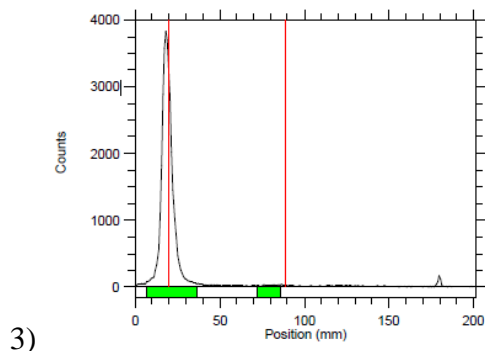
Během práce byly syntetizovány celkem 3 přípravky. U všech přípravků byla pomocí ionizační komory měřena jejich aktivita.

Tabulka 1: Syntetizované přípravky a jejich aktivity

| Přípravek | Celková aktivita |
|-----------------|------------------|
| MAG_3 kit | 158,5 MBq |
| Nanocoll | 146,6 MBq |
| Technescan DMSA | 152,4 MBq |

Radiochemická čistota přípravků byla také studována. Čistota farmaka MAG_3 , jež byla připravena v horkém kitu, dosahovala 96,08 %, zbylých 3,92 % tvořil nezredukovaný technecistan (2. peak). Čistota přípravku Nanocoll dosáhla 97,84 %, kdy zbylých 2,16 % byl opět nenávaný technecistan. Čistota preparátu Technescan DMSA činila 98,90 % s pouhým 1,1% technecistanu. Na všech grafech se také v rozmezí 150-200 objevuje 3. peak, jedná se avšak o nečistotu na detektoru.





Obr. 1: Radiochemická čistota farmak MAG₃ kit (1), Nanocoll (2) a TechneScan DMSA (3)

4 Diskuse

Všechny vyhodnocené procentuální hodnoty byly v požadovaném rozmezí radiochemické čistoty >95 %. Přesto nám grafy ukázaly výskyt nečistot, a to především při použití kitu MAG₃, jehož čistota byla nejnižší a to 96,08 %. Zaznamenané nečistoty mohou být nezredukované nebo hydrolyzované technecium. Je možné, že se do evakuované vialky dostal při vpichu okolní vzduch, který zapříčinil oxidaci již zredukováného technecia, což považujeme za hrubou chybu. Další hrubé chyby pramení z naší nezkušenosti. Kit MAG₃ byl ze staré výroby, kde bylo doporučeno s vialkou netřepat, neboť se z pryžové zátky mohou uvolnit nechtěné látky, což jsme kvůli nevědomosti nedodrželi. Svoji roli hraje i stáří kitu a způsob skladování.

5 Shrnutí

Tato práce se zabývá zhotovením eluátu ^{99m}Tc z radionuklidového generátoru ⁹⁹Mo-^{99m}Tc a následnou výrobou samotného radiofarmaka na bázi ^{99m}Tc. Stanovené cíle byly úspěšně splněny, jelikož se radiofarmaka podařilo úspěšně zhotovit v dostatečné čistotě.

Poděkování

Rádi bychom poděkovali Ing. Kateřině Fialové za množství cenných rad, času a trpělivosti, které nám byla ochotna věnovat jak při laboratorní činnosti, tak při vypracování miniprojektu. Rádi bychom také vyjádřili vděk RNDr. Martinu Vlkovi, Ph.D za poskytnutí zázemí na Katedře jaderné chemie FJFI.

Reference

- [1] SAHA, G. B.: Fundamentals of Nuclear Pharmacy. 5. vyd., ISBN 0-387-40360-4, Springer, New York 2004.
- [2] VÉRTES, A., NAGY, S., KLENCŠÁR, Z., Eds.: Handbook of Nuclear Chemistry, ISBN 1-4020-1316-7, Vol. 4, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 2003.
- [3] KOHLÍČKOVÁ, M., JEDINÁKOVÁ-KŘÍŽOVÁ, V., MELICHAR, F.: Chem. Listy 92, 643 (1998).