

УДК 543.544.25: 543.06

ПРАКТИКА ВИКОРИСТАННЯ ГАЗОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ В КОНТРОЛІ ЯКОСТІ ФТОРДЕЗОКСИГЛЮКОЗИ ДЛЯ ПЕТ-КТ

Меркотун В.К., Ястремська А.В., Фролкова А.С.

Київський міський клінічний онкологічний центр, м. Київ

Вступ

Успіх у боротьбі з онкологічними захворюваннями безпосередньо залежить від якості діагностики. Точність результатів гарантує в подальшому правильне й адекватне лікування. У США та розвинутих країнах Європи дослідження ПЕТ-КТ вважають еталоном стандартом для діагностування онкологічних захворювань: лімфом, раку молочної залози, пухлин голови і шиї, пухлин шлунково-кишкового тракту, раку легень, раку передміхурової залози та ін.

ПЕТ-КТ є методом радіоізотопної діагностики, заснований на застосуванні радіофармпрепаратів (РФП), мічених ізотопами – позитронними випромінювачами, і ґрунтується на реєстрації пари гаммаквантів, які виникають під час анігіляції позитронів. Позитрони бета, розпадаючись, емітують радіонуклід, який входить до складу РФП, що вводять в організм людини чи тварини перед дослідженням.

Наразі найоптимальнішими властивостями володіють сполуки на основі ^{18}F (найбільшим періодом напіврозпаду ($T_{1/2} = 109,8$ хв) і найменшою енергією випромінювання (0,511 MeV)) порівняно з іншими ізотопами, що використовуються в ПЕТ-КТ дослідженнях (^{11}C , ^{13}N , ^{15}O). З одного боку, відносно невеликий період напіврозпаду ^{18}F дозволяє отримувати ПЕТ-зображення високої контрастності при низькому дозовому навантаженні на пацієнтів. З другого, – низька енергія позитронного випромінювання забезпечує високу просторову роздільність ПЕТ-зображень. До того ж період напіврозпаду ^{18}F достатній, щоб забезпечити можливість транспортування РФП на основі фтору-18 з централізованого місця виробництва до клінік та інститутів, які мають ПЕТ-сканери, а також розширити часові межі ПЕТ-досліджень.

У ПЕТ/КТ-відділенні Центру ядерної медицини на базі Київського міського клінічного онкологічного центру в 2011 році було проведено перше ПЕТ/КТ-обстеження в Україні. У відділенні розміщені 2 ПЕТ/КТ-сканери: GE Discovery STE та Philips Gemini TF. На даний момент ПЕТ/КТ-обстеження проводиться з використанням радіонукліду ^{18}F у складі РФП фтордезоксиглюкози ^{18}F (ФДГ).

РФП фтордезоксиглюкоза призначений для вимірювання регіональної швидкості споживання глюкози в нормальній та патологічно зміненій тканині. Діюча речовина препарату 2-[^{18}F]фтор-2-дезоксиглюкоза (2-[^{18}F]ФДГ) є аналогом глюкози, що вводиться внутрішньовенно, повторює початкову стадію метаболічного шляху глюкози, проникаючи з судинного русла в міжклітинний простір, а потім у клітини. ФДГ в організмі людини не зазнає подальшого перетворення та утримується в клітинах в достатній кількості під час ПЕТ-діагностики.

Цикл виробництва РФП на основі фтору-18 складається з трьох основних етапів.

1. Синтез циклотроном радіонукліду фтору-18, який виробляється за ядерною реакцією $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ в мішені циклотрону при опроміненні протонами H^+ з енергією 16,5 MeV і струмом пучка протонів до

40 мкА. Отриманий радіонуклід стабілізується в хімічній формі фториду $^{18}\text{F}^-$. Як опромінювана речовина для мішеней використовують воду високої хімічності, збагачену киснем ^{18}O .

2. Синтез ФДГ у гарячих камерах синтезаторів FASTlab або TRACElab MXFDG виробництва GE Healthcare – компактних автоматизованих системах синтезу РФП, мічених радіонуклідом ^{18}F .

3. Фасування препарату у шприци/флакони виконується роботом-дозатором THEODORICO виробництва COMECER (Італія) – апарат, призначений для автоматичного наповнення і калібрування шприців об'ємом 5 мл або скляних флаконів об'ємом 10 мл. Кожний шприц/флакон автоматично розміщується у відповідній екранованій вольфрамовий контейнер для передачі на контроль якості чи до процедурної кімнати для введення ін'єкцій пацієнтам.

Матеріали та методи

Як і в будь-якому хімічному виробництві, синтез РФП нерозривно пов'язаний із процесом контролю якості [1] – кожна партія виробленого РФП мусить пройти відповідну перевірку, перед тим як буде застосована за призначенням.

Дослідження РФП проводиться з метою моніторингу якості синтезованого препарату – визначення якісного і кількісного складу та його відповідність нормам і стандартам Державної Фармакопеї України (ДФУ) [2].

Контроль якості – багатостадійний процес, в якому задіяні високоефективні апарати, що дозволяють отримувати точні данні стосовно аналізу досліджуваного зразка препарату за усіма критеріями та вимогами.

Основними апаратами для проведення аналізів є:

1. Дозкалібратор Capintec CRC-25PET.
2. Гамма-спектрометр Canberra.
3. Вимірювач водневого показника METTLER TOLEDO.
4. Рідинний хроматограф DIONEX ICS-3000.
5. Сканер для тонкошарової хроматографії EZ-SCAN.
6. Портативна тестова система Endosafe PTS.
7. Газовий хроматограф Varian 3900.

При проведенні аналізів за допомогою вищеперелічених апаратів у синтезованому препараті визначається вміст основної діючої речовини (2-[^{18}F]фтор-2-дезоксиглюкози); побічних продуктів синтезу та залишкова кількість вихідних речовин, безпосередньо 2-[^{18}F]фтор-2-дезоксиглюкози, 2-хлор-2-дезоксиглюкози, криптофіксу, оцтової кислоти, етанолу та ацетонітрилу [3].

Серед останніх слід виділити ацетонітрил ($\text{LD}_{50} = 1\ 670$ мг/кг перорально) та етиловий спирт ($\text{LD}_{50} = 10\ 300$ мг/кг перорально) [4], що використовуються в процесі синтезу, але є токсичними речовинами (50 ppm та 10 000 ppm відповідно для ін'єкційних препаратів, згідно ДФУ), тому визначення залишкових кількостей цих речовин є обов'язковим при

проведенні контролю якості синтезованого препарату. Нормування вмісту оцтової ж кислоти відсутнє.

Як уже зазначалося, вміст ацетонітрилу та етилового спирту не мусить перевищувати 50 ppm та 10 000 ppm відповідно, згідно з ДФУ, проте в закордонних (європейських та американських) джерелах зустрічаються інші вимоги, що значно відрізняються від українських стандартів [5, 6].

Як видно з таблиці, допуск на вміст ацетонітрилу, згідно ДФУ, є найжорсткішим і відповідає як європейським, так і американським стандартам. Проте норма на вміст етанолу є більшою, що слід враховувати при співробітництві із закордонними медичними закладами. Слід зауважити, що при роботі із підприємствами Російської Федерації слід уточнювати вимоги щодо кожного з них, оскільки в цій країні відсутнє централізоване нормування даних речовин на законодавчому рівні. Так, ці вимоги визначаються кожним закладом окремо шляхом проведення клінічних досліджень.

Аналіз препарату на вміст залишкових органічних розчинників проводиться на сучасному газовому хроматографі Varian 3900 з полум'яно-іонізаційним детектором. Для функціонування такого детектора необхідна подача газоподібного водню, у якому відбувається згоряння проби. Сепараційною частиною хроматографа є розподільна колонка капілярного типу з діаметром 0,32 мм та довжиною 30 м. Нерухомою фазою колонки є набивка з високоселективного алюмосилікату, а рухомою – газоподібний гелій. Температура камери випаровування сягає 200°C, а температура детектора 250°C [7]. Саме такі параметри та умови дозволяють досягнути найкращого та найякіснішого розділення компонентів аналізованого препарату без їх хімічного або термічного розкладання та отримати високоточні дані щодо їх вмісту у препараті [8].

Результати

Під час кожного проведення аналізу отримані дані хроматограм препарату порівнюються з аналогічними даними хроматограм стандартних розчинів концентрацій 0,005% (50 ppm) для ацетонітрилу і 1,0% (10 000 ppm) для етилового спирту. Відповідні піки на хроматограмі досліджуваного препарату повинні бути меншими за площею від піків, отриманих для стандартних розчинів. Час проведення повного циклу дослідження препарату на вміст залишкових органічних розчинників сягає не більше 50 хв.

Приклад хроматограм стандартних розчинів ацетонітрилу, етанолу та досліджуваного зразка РФП наведено на рисунках 1–3 відповідно. Як видно з рисунків, площа піку, що відповідає ацетонітрилу в досліджуваному зразку препарату, є в більш ніж 3 рази меншою за площу відповідного піку стандартного розчину, а площа піку, що відповідає за вміст етанолу, менша в 750 разів, ніж площа піку відповідного розчину стандарту. Такі показники вказують на концентрації ацетонітрилу та етанолу в розчині менш ніж 17 ppm і 13 ppm відповідно, що задовольняє вимогам ДФУ.

За три роки роботи Центру ядерної медицини було проведено понад 350 синтезів РФП ФДГ і жодного разу вміст ацетонітрилу й етанолу не перевищував визначені ДФУ норми.

Висновок

Таким чином, використання газохроматографічного дослідження проби радіофармпрепарату дає змогу визначити (з максимальною точністю) вміст токсичних органічних розчинників і запобігти токсикологічному отруєнню пацієнтів у випадку можливого некоректного проходження синтезу даного лікарського засобу, а також підтверджує стабільність і якість роботи блоку виробництва РФП Центру ядерної медицини.

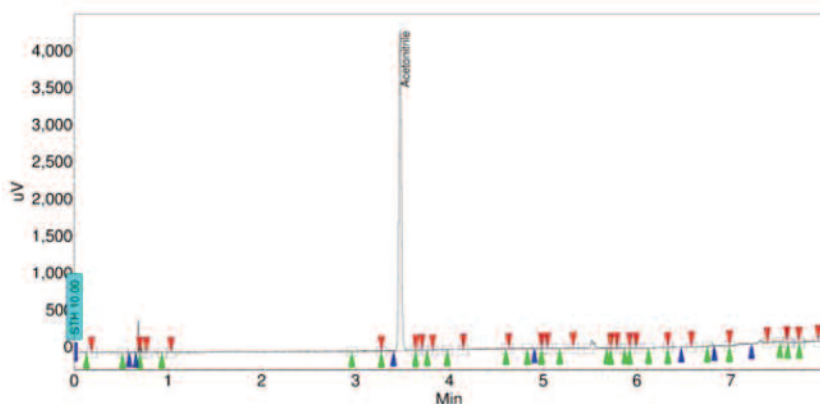


Рис. 1. Хроматограма розчину ацетонітрилу стандартної концентрації 50 ppm

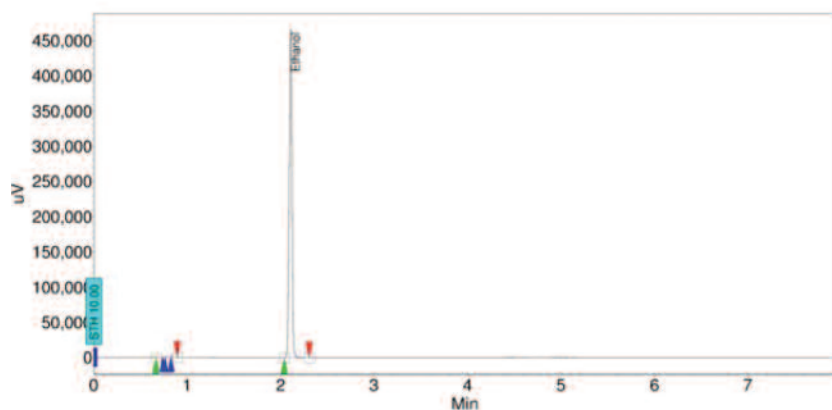
Peak results :

Index	Name	Time (Min)	Quantity (% Area)	Height (uV)	Area (uV Min)	Area % (%)
9	Acetonitrile	3.47	88.99	4340.8	132.6	88.987
Total			100.00	5160.8	149.1	100.000

Таблиця

Вимоги щодо залишкових кількостей органічних розчинників

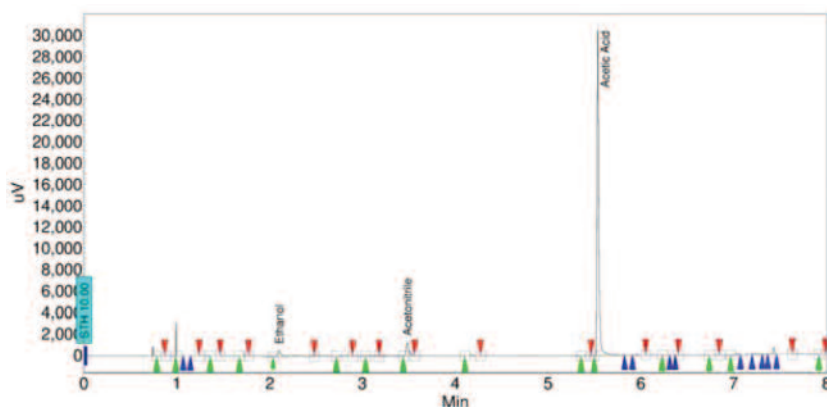
Допустимі концентрації	Державна Фармакопея України	Європейська Фармакопея	Американська Фармакопея
Ацетонітрил	50 ppm	50 ppm	410 ppm
Етанол	10 000 ppm	5 000 ppm	5 000 ppm



Peak results :

Index	Name	Time [Min]	Quantity [% Area]	Height [uV]	Area [uV Min]	Area % [%]
5	Ethanol	2.11	99.87	465263.1	15745.1	99.868
Total			100.00	472736.1	15765.9	100.000

Рис. 2. Хроматограма розчину етанолу стандартної концентрації 10 000 ppm



Peak results :

Index	Name	Time [Min]	Quantity [% Area]	Height [uV]	Area [uV Min]	Area % [%]
7	Ethanol	2.12	2.44	490.4	20.1	2.435
10	Acetonitrile	3.48	5.17	1230.7	42.8	5.175
13	Acetic Acid	5.53	86.46	30534.0	714.5	86.462
Total			100.00	36729.1	826.4	100.000

Рис. 3. Хроматограма розчину досліджуваного зразка РФП

ЛІТЕРАТУРА

1. Наказ Міністерства охорони здоров'я України №836 від 5 жовтня 2010 р.
2. Державна Фармакопея України (1-е вид.). – 2001. – 556 с.
3. Стандартна операційна процедура визначення залишкових розчинників на газовому хроматографі № 8.2.4-01/ВКЯ, Друга редакція 2013 р. – 5 с.
4. Суворов А.В. Справочник по клинической токсикологии. — Нижний Новгород: Изд-во НГМА, 1996. – 180 с. (Карманный справочник врача. Токсикология).
5. European Pharmacopoeia Monographs for individual radiopharmaceutical preparations (September 2007).
6. US Pharmacopeia. <823> Radiopharmaceuticals for positron emission tomography-compounding. – 2003.
7. Varian 3900 GC Operation Manual. – 2001 year.
8. Столяров Б.В., Савинов И.М., Виттенберг А.Г. Практическая газовая и жидкостная хроматография. — Изд-во СПб ун-та, 2002. – 611с.

РЕЗЮМЕ. В даній статті описується доцільність і необхідність використання газохроматографічного методу аналізу

синтезованого радіофармпрепарату, з метою визначення залишкових кількостей токсичних органічних розчинників, що використовуються в процесі його синтезу. **Ключові слова:** ПЕТ-КТ, радіофармпрепарат, контроль якості, ФДГ, ацетонітрил, ацетон, етиловий спирт, вміст, аналіз, газовий хроматограф.

РЕЗЮМЕ. В данной статье описывается целесообразность и необходимость использования газохроматографического метода анализа синтезированного радиофарм-препарата для определения остаточных количеств токсических органических растворителей, которые используются в процессе его синтеза

Ключевые слова: ПЭТ-КТ, радиофармпрепарат, контроль качества, ФДГ, ацетонитрил, ацетон, этиловый спирт, содержание, анализ, газовый хроматограф.

SUMMARY. This article describes expediency and necessities of using a gas chromatographic method of analysis of the synthesized radiopharmaceutical for the determination of residues of toxic organic solvents are used during its synthesis. **Keywords:** PET-CT, radiopharmaceuticals, quality control, FDG, acetonitrile, acetone, ethanol, content, analysis, gas chromatograph