
PËRGATITJA DHE KONTROLLI I CILËSISË SË RADIOFARMACEUTIKATIT ⁹⁰Y-CITRAT PREPARATION AND QUALITY CONTROL OF THE ⁹⁰Y-CITRAT RADIOPHARCEUTICAL

ELIDA BYLYKU, BRUNILDA DACI, SKENDER MALJA
Qendra e Fizikes Berthamore të Zbatuar, Universiteti i Tiranës, Shqipëri
Rruga "Qesarake", Kutia Postare 85, Tiranë, Shqipëri
Email: elidabylyku@yahoo.co.uk

AKTET IV, 1: 35 - 40, 2011

PËRMBLEDHJE

Ky studim i referohet një metode relativisht të thjeshtë dhe të shpejtë për të përgatitur radiofarmaceutikatin ⁹⁰Y-citrat. Kemi përmirësuar dhe modifikuar procedurën e publikuar më parë duke konvertuar solucionin e ekstraktuar në forme klorure (⁹⁰Y-Cl₃), i përdorur për përgatitjen e solucionit të injektueshëm ⁹⁰Y-citratë dhe shënimin e disa radiofarmaceutikatëve të tjerë. Eshtë realizuar kontrolli i cilësisë së solucionit ⁹⁰Y-citratë. Eshtë kontrolluar pastërtia radiokimike, pastërtia kimike, rrjedhja e ⁹⁰Sr dhe rendimenti i ekstraktimit. Për të kontrolluar pastërtinë radiokimike është zbatuar metoda ITLC në sistemin ITLC-SG / 0.1 M TRIS. Pastërtia kimike është kontrolluar duke përdorur metodën Hnatovich, ndërsa rrjedhja e ⁹⁰Sr dhe rendimenti i ekstraktimit duke përdorur metodën e shintilatorëve të lëngët. Rezultatët treguan se ky produkt plotëson të gjitha kërkesat për përdorim si radiofarmaceutikat.

Fjalë kyçe: Pastërti kimike, radiofarmaceutikat, radioizotop, rendiment ekstraktimi, rrjedhja e ⁹⁰Sr, ⁹⁰Y-citrat.

SUMMARY

The current study refers to a relatively simple and fast method to prepare radiopharmaceutical ⁹⁰Y-citratë. We have improved and modified previously published procedure converting into chloride form ⁹⁰YCl₃-solution, used for preparing of injectable ⁹⁰Y-citratë and labeling of some other radiopharmaceuticals. Quality control of ⁹⁰Y-citratë solution is performed. It is checked radiochemical purity, chemical purity, ⁹⁰Sr breakthrough and extraction yield. The Instant Thin Layer Chromatography (ITLC) method in ITLC-SG / 0.1 M TRIS System it is applied to check radiochemical purity. Chemical purity is check by using of Hnatovich method, while ⁹⁰Sr breakthrough and extraction yield using Liquid Scintillation Method. This radiopharmaceutical fulfils all requirements for radiopharmaceuticals in general.

HYRJE

Bazuar në parimin e funksionimit të gjeneratorit izotopik ⁹⁰Sr-⁹⁰Y, pas një intervali kohor prej afërsisht dy javësh, radioizotopet ⁹⁰Sr dhe ⁹⁰Y ndodhen në të ashtuquajturin ekuilibër shekullor, pra me aktivitetet të barabarta edhe pse janë në sasi të ndryshme. Ideja e një gjeneratori është ndarja (largimi) e radioizotopit bijë (⁹⁰Y) nga ai mëmë (⁹⁰Sr), pas arritjes së këtij ekuilibri, dhe prodhimi nga ana e radioizotopit mëmë e sasive të reja të radioizotopit bijë. Ekzistojnë shumë metoda të rekomanduara në literaturë që

përshkruajnë ndarjen e këtyre dy izotopeve, duke filluar nga metodat e precipitimit, ekstraktimit me solvent, jonokëmbimit e deri tek metoda e jonokëmbimit në membranë. Më të rëndësishmet dhe më të përdorshmet mbetën metodat e ekstraktimit dhe jonokëmbimit. Zakonisht metodat e kromatografisë së jonokëmbimit përdoren kur shfrytëzohen aktivitetet deri në nivele MBq ndërsa metodat e ekstraktimit me solvent shfrytëzojnë aktivitetet deri në nivele GBq, kjo për shkak të efektit të radiolizës së rezinës që përdoret në metodat

kromatografike. Ekziston një përvojë e gjatë pune lidhur me ndërtimin e gjeneratorëve kromatografikë ^{90}Sr - ^{90}Y . Megjithëse këta gjeneratorë janë shumë të thjeshtë në përdorim dhe për këtë kanë marrë përhapje të gjerë, problemi kryesor i tyre mbetet jetëgjatësia.

Duke pasur parasysh rëndësinë e përdorimit të solucionit ^{90}Y -citrat të prodhuar nga gjeneratori ^{90}Sr - ^{90}Y dhe të radiofarmaceutikatëve tërapiutike që prodhohen nga shënimi me ^{90}Y për tërapiutë e sëmundjeve kanceroze u ndërmor ky studim me objektivin e përgatitjes së solucionit ^{90}Y të marrë nga gjeneratori në trajtë acidi dhe kalimin e tij në trajtë radiofarmaceutikati ^{90}Y -citrat të gatshëm për t'u përdorur për tërapi në pacientë me metastaza kanceroze.

Solucionet e marra pas ekstraktimit u kontrolluan për pastërtinë radiokimike (përcaktimi i rendimentit të shënimit), radiobërthamore (përmbajtja e ^{90}Sr nuk duhet të kalojë vlera limitë të përcaktuara kur solucion përdoret për qëllime klinike) dhe kimike (përmbajtja e joneve metalike dy dhe tre valentë që shoqërojnë ^{90}Y si: Fe^{+3} , Zn^{+2} , Cu^{+2} , Zr^{+2} , etj., kur solucion përdoret për shënimin e biomolekulave sensitive) [5].

MATERIALI DHE METODA

1. Përgatitja e solucionit të jonit $^{90}\text{Y}^{3+}$

^{90}Y i ndarë nga solucion ^{90}Sr - ^{90}Y , si rezultat i procesit të ekstraktimit me 8-hidroksikolinë të tretur në kloroform, është në trajtë kompleksi. Në gjendje të tillë ai nuk mund të përdoret për shënimin e komponimeve të ndryshme dhe as për qëllime tërapiutike si radiofarmaceutikat. Ai duhet kaluar në formë jonike si $^{90}\text{Y}^{3+}$. Pra duhet realizuar "ekstraktimi i kthimit" të tij në gjendjen fillestare (siç ndodhet në solucionin ^{90}Sr - ^{90}Y). Për këtë është i nevojshëm shkatërrimi i kompleksit, të krijuar midis tij dhe 8-hidroksikolinës. Për të realizuar këtë kalim u përdor solucion 0.01N HCl në vëllim 1:1 me fazën organike të marrë nga procesi i ekstraktimit (që përmban kompleksin e ^{90}Y me 8-hidroksikolinë). Dy fazat iu nënshtruan procesit të ekstraktimit (përzierje 30 minuta, centrifugim 5 minuta 3000rrot/min, ndarje fazash, përcaktimi i pastërtisë radiokimike të secilës faze dhe i shkallës së ekstraktimit [7]).

2. Përcaktimi i pastërtisë kimike të solucionit të $^{90}\text{Y}^{3+}$

Përmbajtja e joneve të metaleve dy dhe tre valentë është parametër i rëndësishëm i cilësisë së solucionit të $^{90}\text{Y}^{3+}$, veçanërisht kur përdoret për shënimin e antitropave dhe aminoacideve në të cilët është bashkuar agjenti DTPA. Sasia e metaleve gjurmë duhet mbajtur sa më e ulët të jetë e mundur që të merren rendimentë sa më të larta shënimi të këtyre biomolekulave sensitive. Në procesin e shënimit të antitropave ose të somatostatinës në të cilët është e lidhur DTPA, prania e joneve të metaleve gjurmë në mjedisin e shënimit çon në konkurimin e joneve të metaleve joradioaktive me ^{90}Y për vende lidhjeje me DTPA, duke rezultuar kështu në një rendiment shënimi të ulët [3]. Në përputhje me metodikën Hnatovich, efekti i metaleve gjurmë mund të matët duke përcaktuar rendimentin e shënimit në solucione me përqëndrime shumë të ulëta të DTPA së lirë në prani të ^{90}Y [4].

Mënyra e veprimit

Në enë të vogla plastike u hodh 100 μl nga secili solucion i DTPA i përgatitur si më lart dhe në secilin nga to u shtua nga 1 μl solucion radioaktiv i ^{90}Y të përgatitur siç është treguar më lart (i gatshëm për shënim). Pas 2 orësh analizojmë secilin solucion duke zhvilluar kromatografi në letër Whatman 1Chr dhe duke përdorur si eluent 0.1M TRIS në pH = 7. Në këtë sistem kompleksi ^{90}Y -DTPA migron me frontin, ndërsa ^{90}Y i lirë qëndron në origjinë [1].

3. Përcaktimi i rendimentit të ekstraktimit të ^{90}Y dhe rrjedhjes së ^{90}Sr

Përcaktimi i rendimentit të ekstraktimit (shkalla absolutë e ekstraktimit) dhe përmbajtja e sasive gjurmë të ^{90}Sr në solucionin e $^{90}\text{Y}^{3+}$, të përgatitur siç u përshkrua më lart, u realizua me metodën e spektrometrisë së shintilatoreve të lëngët.

Procedura e përcaktimit

β -zbërthimi i ^{90}Sr dhe ^{90}Y është matur më anë të numëruesit me shintilatorë të lëngët të tipit TRI-CARB 1600TR (Packard-Canberra).

Kushtet e matjes:

		Zonat energetike		Rajoni C	25	1000	$^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$
Rajoni A	25	250	$^{90}\text{Sr} + \text{Rajoni i energjisë së ulët të } ^{90}\text{Y}$	Koha e matjes:	1 minutë.		
Rajoni B	250	1000	Rajoni i energjisë së lartë të ^{90}Y				

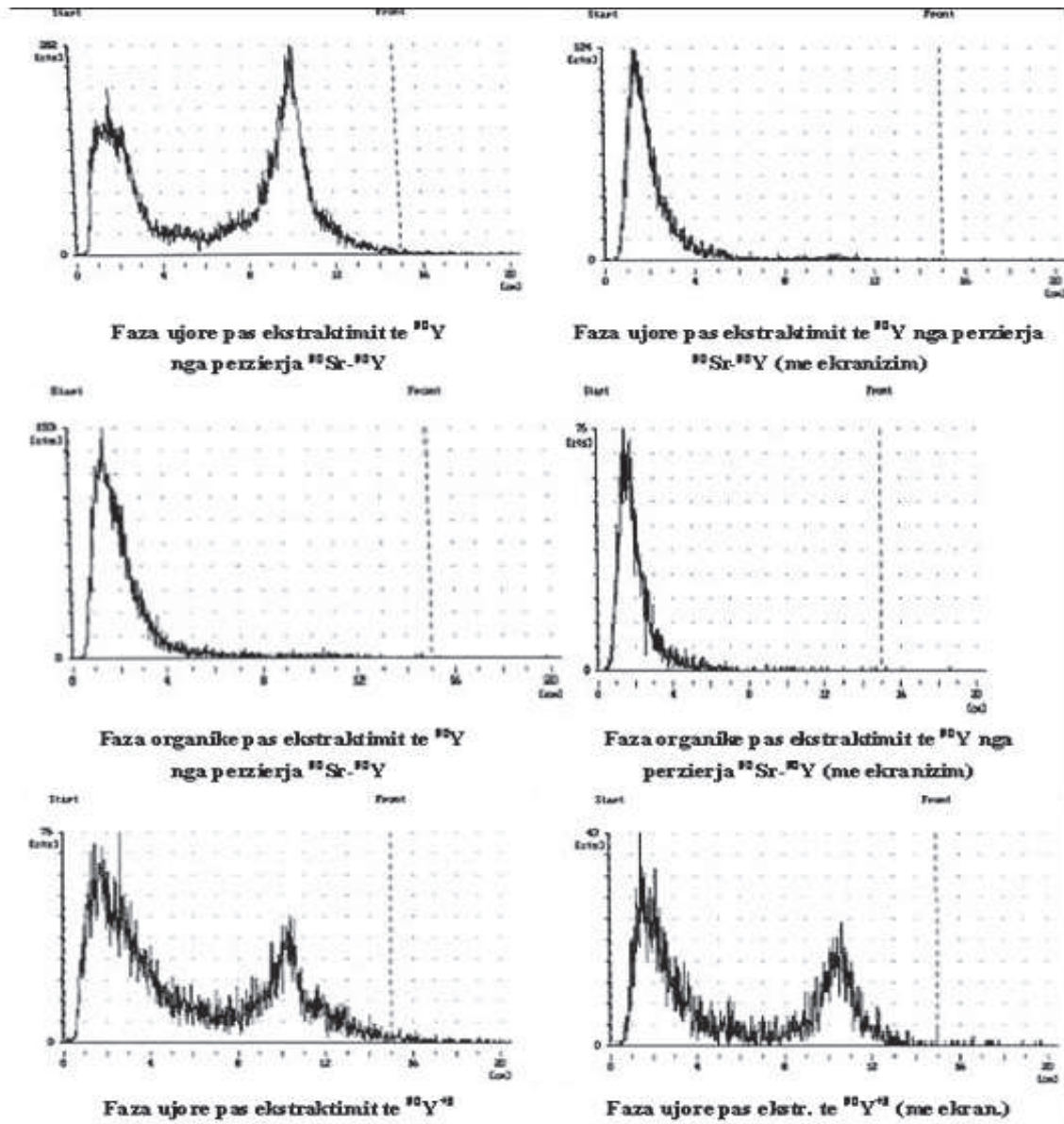


Figura 1. Kromatogramat e skanuara për një cikël të plotë ekstraktimi

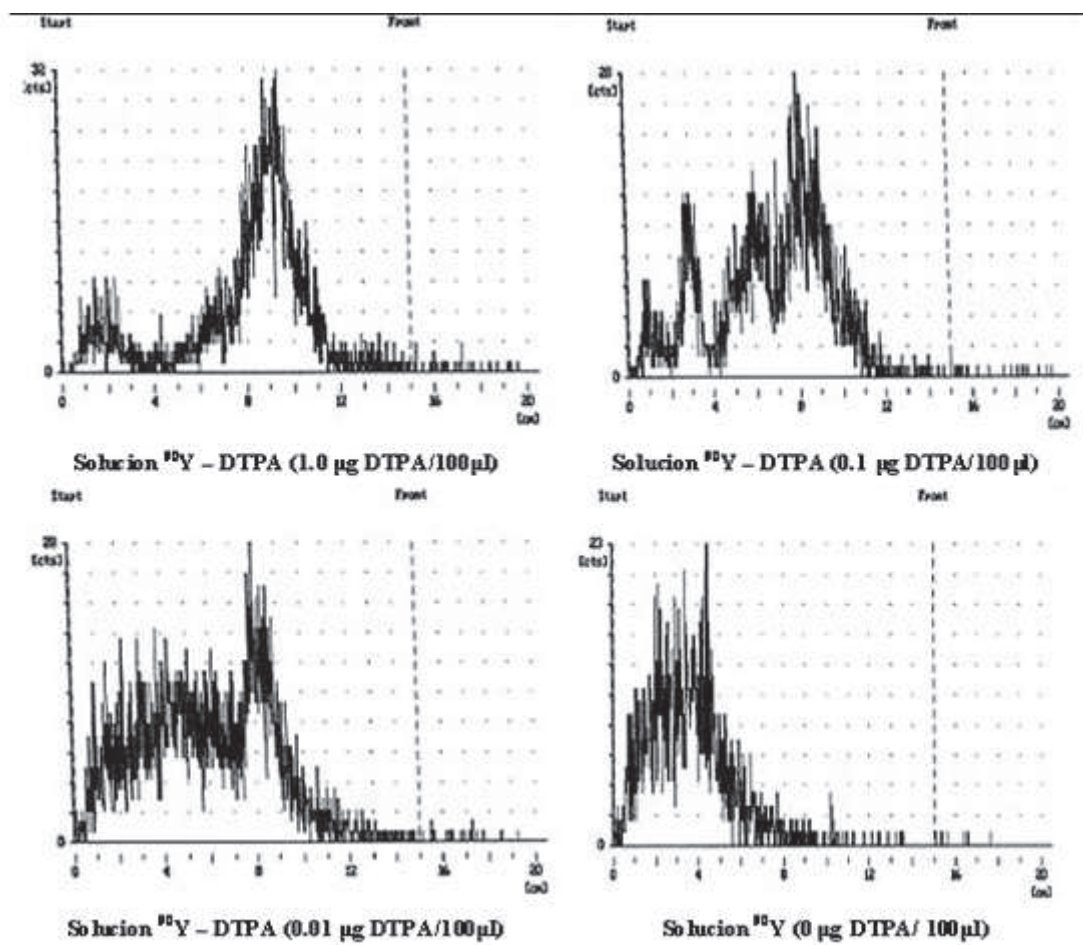


Figura 2. Kromatogramat e skanuara për përqëndrime të ndryshme të DTPA-së

Përcaktimi i rendimentit të ekstraktimit të ^{90}Y

U përgatitën një seri mostrash nga solucioni në ekuilibër ^{90}Sr - ^{90}Y , u matën me shintilatorë të lëngët (metoda Cerenkov) në intervalet e energjisë të përcaktuar nga kalibrimi i aparaturës. Nga matjet e kryera u llogarit përmbajtja e ^{90}Y në to. Më pas secili prej solucioneve iu nënshtrua procesit të ekstraktimit deri në fazën e nxjerrjes së $^{90}\text{Y}^{+3}$. Solucionet e marra që përmbajnë ^{90}Y dhe gjurmë të ^{90}Sr janë matur në të njëjtën mënyrë si përzjerja në ekuilibër dhe është llogaritur aktiviteti i ^{90}Y në to.

Përcaktimi i rrjedhjes së ^{90}Sr

Rrjedhja (përmbajtja në sasi gjurme) e ^{90}Sr në solucionet e $^{90}\text{Y}^{+3}$, kur ato përdoren për terapi në pacientë me metastaza kanceroze në kocka, është një parametër shumë i rëndësishëm i kontrollit të kualitetit të këtyre solucioneve (kemi parasysh këtu radiotoksicitetin shumë të lartë të shkaktuar nga ai). Ekzistojnë norma kufi të vendosura lidhur me përmbajtjen e ^{90}Sr në këto radiofarmaceutikate [6].

Për të përcaktuar përmbajtjen e ^{90}Sr në solucionet e $^{90}\text{Y}^{+3}$, u lanë një seri mostrash të tyre për t'u zbërthyer për një kohë prej 10 perida gjysmëzberthimi të ^{90}Y (26 ditë). Më pas u mat dhe u llogarit aktiviteti i seciles prej tyre, sipas procedurës së përshkruar më lart me metodën e

spektrometrisë së shintilatorëve të lëngët. $\frac{1}{2}$ e këtij aktiviteti jep përmbajtjen e ^{90}Sr në këto solucione (pas 26 ditësh ^{90}Sr dhe ^{90}Y ndodhen përsëri në ekuilibër radioaktiv).

4. Përgatitja e radiofarmaceutikut ^{90}Y -citrat

Solucioni radioaktiv që përmban $^{90}\text{Y}^{3+}$ në 0.01N HCl nuk mund të përdoret direkt si radiofarmaceutikat për qëllime terapeutike. Ai duhet t'i nënshtrohet një përpunimi kimik për të kaluar në formën kimike të përshtatshme për t'u pranuar nga organizmi i njeriut. Ky përpunim përmbledh këto faza:

Avullim shumë i ngadaltë (për të mos krijuar humbje të radioaktivitetit dhe ndotje) i solucionit deri në të thatë

Djegje dhe trajtim me disa pika H_2O_2 , HNO_3 dhe HClO_4 , me alternim (për të shkatërruar mbeturinat organike të pranishme në fazat e ekstraktimit)

Mbetja e fundit trajtohet me 3ml solucion citrati izotonik (11.4mM $\text{Na}_3\text{citrat} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dhe 77mM NaCl)

Lihet të qëndrojë për rreth 10 minuta për të përfunduar reaksionin i plotë

Filtrohet në mënyrë aseptike në një filtër steril milipor 0.22 μm

Solucioni i gatshëm rekomandohet të ruhet në frigorifer (-4°C) deri në përdorim.

Ky solucion mund të përdoret për trajtimin e dhimbjeve të shkaktuara nga metastazat e kockave duke u injektuar intra-venoz në një dozë prej 5-10mCi [2], pasi i është nënshtuar kontrollit të kualitetit për pastërtinë radiokimike dhe përmbajtjen e ^{90}Sr të përshkruar si më lart.

REZULTATET DHE DISKUTIMI

1. Përgatitja e solucionit të jonit $^{90}\text{Y}^{3+}$

Rezultatet e marra nga disa prova paralele treguan për një ekstraktim (kalim) pothuajse të plotë të ^{90}Y nga faza organike (ku ndodhet si kompleks) në fazën ujore (si jon $^{90}\text{Y}^{3+}$). Shkalla e ekstraktimit në të gjitha rastet është mbi 98%. Por analiza radiokromatografike e solucionit përfundimtar që përmban ^{90}Y tregon për ekzistencën e dy pikeve kromatografike.

Dyshimet për praninë e ^{90}Sr bien menjëherë pas skanimit të së njëjtës kromatogramë me ekranizim të plotë për ^{90}Sr . Fakti që piku i dytë nuk zhduket, me ekranizim të plotë të kromatogramës, tregon për mungesë të tij. Si përfundim mund të themi që shkatërrimi i kompleksit ^{90}Y - 8-hidroksikonoline me 0.01N HCl çon në formimin e dy komponimeve të $^{90}\text{Y}^{3+}$. Në këtë përfundim u arrit pas kryerjes së një serie procedurash paralele dhe marrjes së rezultateve të përsëritura. Kromatogramat e skanuara për një cikël të plotë procesi ekstraktimi deri në fazën e marrjes së $^{90}\text{Y}^{3+}$ jepen në Fig. 1.

2. Përcaktimi i pastërtisë kimike të solucionit të $^{90}\text{Y}^{3+}$

Kromatogramat e skanuara për përqëndrimet 1; 0.1 dhe 0.01 μg DTPA / 100 μl solucion, jepen në Fig. 2. Përveç kësaj, zhvillojmë edhe kromatografinë e solucionit të ^{90}Y të patrajtuar me DTPA, për të na ndihmuar në gjykim.

Duke analizuar kromatogramat gjykojmë që në rastin e solucionit pa DTPA shfaqet vetëm piku i ^{90}Y . Në solucionin me përqëndrim 0.01 μg DTPA / 100 μl fillon të shfaqet piku i ^{90}Y -DTPA. Ky pik është më i theksuar në solucionin me përqëndrim 0.1 μg DTPA / 100 μl . Në solucionin me 1 μg DTPA / 100 μl shihet që arrihet rendiment shumë i lartë shënimi i DTPA me ^{90}Y , kompleksi ^{90}Y -DTPA arrin në rreth 90%.

Si përfundim mund të themi se solucioni i $^{90}\text{Y}^{3+}$, i përgatitur për shënim biomolekulash përmban gjurmë të joneve metalike 2 dhe 3 valentë. Është e domosdoshme që solucionin e ^{90}Y të pastrohet nga gjurmët e kationeve që e shoqërojnë atë si papastërti. Për pastrim, solucionin kalohet në një kollonë jonokëmbyese (të përgatitur me rezinë që ka afinitet për të mbajtur jonet metalike dhe ^{90}Y). Nga kjo kollonë eluohet ^{90}Y me eluent specifik për të.

3. Përcaktimi i rendimentit të ekstraktimit të ^{90}Y dhe rrjedhjes së ^{90}Sr

Nga matjet e kryera është llogaritur rendimenti i ekstraktimit të ^{90}Y me formulën:

$$\text{Rendimenti i ekstraktimit të } ^{90}\text{Y} (\%) = A_Y / A_{\text{Sr-Y}}$$

ku: A_Y është aktiviteti i ^{90}Y në solucionin e marrë pas fazës së plotë të ekstraktimit

$A_{\text{Sr-Y}}$ është aktiviteti i ^{90}Y në solucionin në ekuilibër ^{90}Sr - ^{90}Y .

Rezultatet e marra nga kjo metode, si mesatare e një serie mostrash paralele, treguan se rendimenti i ekstraktimit të ^{90}Y (ose shkalla absolute e ekstraktimit) nga solucionin në ekuilibër ^{90}Sr - ^{90}Y është 81%. Ky rendiment përfaqëson rendimentin e reaksionit kimik të kompleksoformimit të ^{90}Y me 8-hidroksikinolinin, rendimentin e procesit të ekstraktimit dhe humbjet e shkaktuara si pasoje e absorbimit të ^{90}Y në faqet e enëve të qelqit që përdoren për ekstraktim dhe ndarje fazash.

Rezultatet e marra nga metoda e përdorur për përcaktimin e rrjedhjes së ^{90}Sr , treguan se përmbajtja e ^{90}Sr në këto solucione nuk kalon në asnjë rast kufirin maksimal të lejuar $^{90}\text{Sr} / ^{90}\text{Y} < 10^{-6}$.

PËRFUNDIME

Përfundimet më të rëndësishme të arritura nga ky studim janë:

1. Mbi bazën e gjithë punës studimore të kryer, lidhur me mundësinë e përgatitjes së solucionit të ^{90}Y -citrat për qëllime terapeutike ose për shenim biomolekulash, arritëm në përfundimin se ky preparat plotëson të gjitha kërkesat e përdorimit si radiofarmaceutikat.
2. U përcaktua procedura optimale për përgatitjen e solucionit të $^{90}\text{Y}^{+3}$ të gatshëm për shenim biomolekulash dhe përdorim në radioterapi.
3. U përcaktua rendimenti mesatar i ekstraktimit të ^{90}Y sipas procedurës së propozuar, 81%.

4. Përmbajtja e ^{90}Sr në solucionet e përdorura për radioterapi në pacientë në asnjë rast të analizuar nuk kalon vlerat kufi të lejuara.

5. Kontrolli i pastërtisë kimike tregoi për pastërti të lartë kimike të preparatit radiofarmaceutik përse i përket joneve të metaleve dy dhe tre valentë.

BIBLIOGRAFIA

1. Malja, S. A fast chromatographic method for separation and determination of ^{90}Sr in ^{90}Y elute. *Fifth Balkan Physical Society Meeting*, SP 15-021, 25-28 August 2003, Vrnjacka Banja, Serbia.
2. Malja S. Labeling of MDP with ^{90}Y . *J.N.S.T.*, 5, 1999.
3. Malja S. Preliminary results on labeling antibody Mab B72.3 with ^{90}Y . *J.Radioanal. Nucl. Chem.*, Letters 218, (2), 1997.
4. Malja S. Preliminary results on labeling tetrasulphonil-porphyrin with ^{90}Y . *Albanian Journal of Natural & Technical Science*. No. 6 (2000), 81-87.
5. Malja S. Preparation of ^{90}Y by the ^{90}Sr - ^{90}Y generator for medical purpose. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry.*, *J.Radianalytical and Nuclear chemistry*, Vol. 245, No 2 (2000) 403-406.
6. Malja S. Some aspects of the Sr-90-Y-90 generator production and development of a new quality control method. *The Society of Nuclear Medicine 44th Annual Meeting*, San Antonio Convention Centre, 1-5 June 1997.
7. Malja S. Some preliminary results on labeling of 1-hydroxyethylenediphosphonic acid with Y-90. ISTR-2005, IAEA-CN-130/120, Vienna 2005.