تولید و کنترل کیفی پرتو داروی [^{18}F] ۲- فلوئورو - داکسی گلوکز [^{18}F-2FDG] در ایران

دکتر امیررضا جلیلیان - دکتر حسین آفریده - مهندس براتعلی اکبری - مهندس محمد شفیعی - مهندس بهروز شیرازی - مهندس محمد میرزایی - مهندس خسرو آردانه

بخش سیکلوترون مرکز تحقیقات کشاورزی پزشکی هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران

چکیده

پرمصرف‌ترین پرتوداروی سال ۱۹۸۹ در ایالات متحده، ۲- فلورودا‌کسی گلوکز بوده است که در ابتدای امر برای نگاره‌برداری تابش پوزیترون در تشخیص تومورهای حفره جمجمه و مصرف موضعی گلوکز سلول‌های عصبی بکار گرفته شد. با توجه به اهمیت این پرتودارو تولید آزمایشی و کنترل کیفی آن از شهریور ماه ۱۳۷۶ در بخش سیکلوترون مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای کرج آغاز و قابلیت تجویز آن به بیماران محرز گردید. ملکول ^{18}F-2FDG (۳) طی دو مرحله واکنش شیمیایی از ماده اولیه ۲- O - تری‌فلورومتان سولفونیل - ۱، ۳، ۴، ۶ - تترا - O - استیل - β - D - مانوز (۱) و فلوئور -۱۸ حاصل از بمباران آب غنی شده ^{18}H2O (٪۹۵ <)(۲) توسط پروتون با انرژی ۱۸MeV حاصل می‌شود (۳) و طی هیدرولیز و خالص‌سازی، پرتوداروی ^{18}F-2FDG خالص را بدست می‌دهد. خلوص رادیو شیمیایی آن بالای ۹۵٪ و اکتیویته اختصاصی آن حداقل ۲۱۰۰Ci/mmole می‌باشد که پس از ایزوتونیک شدن و کنترل کیفی آماده تزریق به بیماران می‌گردد.

مقدمه

فلوئور-۱۸ که عنصر ملکول ^{18}F-2FDG می‌باشد یک عنصر پوزیترون دهنده است که در مرکز تحقیقات کشاورزی پزشکی هسته‌ای کرج از بمباران آب غنی شده (^{18}O-H2O->٪۹۵) توسط پروتون‌های پرانرژی حاصل می‌شود و پس از جدا شدن F^- از آب گران قیمت غنی شده طی واکنش‌های شیمیایی به ^{18}F-2FDG تبدیل می‌شود (۴). ملکول اخیر با خاصیت انتخابی بیشتری به سلول‌های عصبی جذب می‌شود چرا که این سلول‌ها اختصاصاً از گلوکز به عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند. به دلیل بالا بودن میزان آنزیم هگزوکیناز در سلول‌های مغزی، ملکول مذکور از ناحیه اکسیژن ۶ فسفوریله می‌شود و به سبب قطبی شدن نمی‌تواند از سلول خارج شود. از طرفی به دلیل وجود فلوئور بجای OH- در ناحیه ۲، واکنش‌های بعدی انجام نمی‌شود و پس از نابودی F^{18} رهش پوزیترون صورت می‌گیرد (۵). پوزیترون پس از برخورد با پادذره خود یعنی الکترون به دو فوتون گامای پرانرژی (۲×۵۱۱ Kev) با زاویه ۱۸۰° نسبت به یکدیگر تبدیل می‌شود. که توسط

یک مدار الکترونیکی که فقط پرتوهای همزمان را ثبت می‌کند تصحیح می‌گردد (۶).

دوربین‌های PET مجهز به صدها قطعه آشکارساز سوسو زن در اتصال به سیستم الکترونیک خاص، تصاویر دقیقی از محل استحاله تا دقت $0/4\ Cm^3$ می‌دهد. هرچه سلول فعال‌تر باشد مصرف گلوکز بیشتر بوده و تصویر شدت بیشتری دارد. تومورها که دارای جذب بالایی از گلوکز هستند و بسیاری از بیماری‌های عصبی مثل شیزوفرنی، صرع، جنون و ... که همگی توأم با پرکاری یا کم‌کاری نواحی مختلف و در نتیجه مصرف غیر طبیعی گلوکز هستند و همچنین نواحی کم جذب ^{18}FDG در سکته‌های مغزی و یا جنون پیری (Alzehimer's disease) توسط این رادیو دارو قابل تشخیص می‌باشند. همچنین این رادیو دارو کاربردهای با ارزشی در کاردیولوژی و انکولوژی دارد.

روش‌کار

نیمه عمر فلوئور-۱۸ حدود ۱۱۰ دقیقه است بنابراین واکنش شیمیایی روی آن باید بسیار سریع و کارآمد باشد.

تهیه ^{18}F-2FDG : بخش شیمیایی تولید پرتو دارو دارای دو مرحله اصلی می‌باشد که یکی بخش تهیه یون فلوئورید و دیگری بخش آلی آن است.

الف) تهیه [^{18}F] فلوئورید و تبدیل به فرم واکنش دهنده (۳): مقدار ۱/۷ میلی‌لیتر آب مقطر غنی شده حاوی اکسیژن -۱۸ با خلوص بالای ۹۵٪ در یک هدف از جنس نقره به مدت ۱۵ الی ۲۰ دقیقه تحت تابش پروتون‌هایی با انرژی ۱۸ میلیون الکترون ولت توسط سیکلوترون (سیکلون - ۳۰) موجود در مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای کرج (NRCAM) قرار می‌گیرد. واکنش هسته‌ای رخ داده چنین است:

$$^{18}O(p, n)\ ^{18}F$$

سپس محلول حاصل از واکنش فوق وارد سیستم جمع‌آوری (Recovery) واقع در Hot Cell می‌گردد که در آن ابتدا از روی یک رزین آنیونی عبور کرده و ^{18}F به فرم یون فلورید (۷)، روی رزین متصل می‌گردد (۸) و باقیمانده آب غنی شده جمع‌آوری می‌گردد. با شستشوی رزین با محلول کربنات پتاسیم یون فلورید به فرم $K^{18}F$- خارج می‌شود که حجمی حدود ۱ میلی‌لیتر داشته و وارد ظرف واکنشی می‌گردد که قبلاً در آن یک ماده فعال‌کننده یون فلوئورید موسوم به کریپتوفیکس ۲۲۲ (نام شیمیایی -۴، ۱۳،۱۶،۲۱،۲۴- هگزا اکسا-۱ و ۱۰-دی‌آزابی سیکلو (۸،۸،۸) هگزاکوزان) به مقدار ۲۵ میلی‌گرم به همراه حلال آزئوتروپ خارج می‌شود و یون فلوئورید در کنار کریپتوفکس به حالت فعال و خشک می‌رسد. عمل خشک شدن ۲ بار دیگر با افزودن مقادیر استونیتریل تکرار می‌شود. ملکول (۱) به صورت محلول در استونیتریل به اکتیویته خشک افزوده می‌شود و در دمای ۹۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه حرارت می‌بیند و واکنش اتصال فلوئورید به (۱) انجام می‌گیرد و پس از خشک شدن استونیتریل توسط حرارت، افزایش اتر معمولی به آن صورت می‌گیرد تا ماده لیپوفیل (۲) را حل کند و عبور آن از ستون‌های کوچک Silica Sep-Pak، یون‌های آزاد K^+ و $CO3^{2-}$ و ^{18}F را خارج کرده و ملکول (۲) به فرم خالص وارد ظرف واکنش دیگر می‌گردد و به آن اسید کلریدریک ۱N افزوده می‌شود و حرارت می‌بیند تا بوسیله هیدرولیز، ملکول (۳) حاصل آید. سپس مخلوط هیدرولیز از

ستون‌های آلومین، رزین و نهایتاً ستون C18 Sep-Pak عبور میکند تا به ترتیب کلیه آلودگی‌های اولیه یونی و فرم تترااستیل (۱) و (۲) از آن خارج گردد و به صورت خالص در آب خارج گردد. محلول اخیر توسط بافر فسفات به حدود pH=6 می‌رسد و از صافی میکروبی ۰/۲۲ میکرون عبور کرده و آماده تجویز می‌گردد (۸).

کنترل کیفیت

^{18}F-2FDG پرتوداروی تزریقی، آپیروژن، استریل و ایزوتون با اکتیویته ویژه حدود ۵۰ تا ۲۵۰ میکروکوری است که آزمایش‌های کنترل کیفی زیر روی آن انجام می‌گیرد:

الف) تعیین خلوص شیمیایی: به منظور اثبات خلوص شیمیایی ^{18}F-2FDG، تجسس جهت تشخیص برخی از مواد شرکت‌کننده در واکنش انجام می‌گیرد. مهم‌ترین ماده مزاحم کریپتوفیکس ۲۲۲ است که سمیت زیاد آن قبلاً گزارش شده است. جهت کنترل خلوص محصول نسبت به ماده اخیر، محلول‌های استاندارد ماده فوق با غلظت‌های مختلف (بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در متانول تهیه شدند و سپس روی صفحات کروماتوگرافی بر روی لایه نازک سیلیکا با پایه پلیمر توسط لوله‌های باریک شیشه‌ای نمونه‌گذاری شدند و در حلال متانول - هیدروکسید امونیوم (۱۰٪ - ۹۰٪) در تانک کروماتوگرافی گسترش یافتند. نهایتاً صفحه مذکور در تانک دیگری که از بخار ید اشباع شده بود قرار گرفته و جذب کامل ید روی این لکه‌ها مشاهده گشت. از آنجایی که حجم تزریقی ^{18}FDG-2به بیمار نیز یک میلی‌لیتر است، در صورت عدم مشاهده لکه کریپتوفیکس در تانک ید از نمونه تزریقی، مقدار کریپتوفیکس زیر دامنه ۱/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است که این مقدار ۰/۰۰۰۲ مقدار سمی گزارش شده در موش است (جدول ۱ و ۲) (۹).

ب) تعیین خلوص رادیو شیمیایی: از یک نمونه تازه تولید شده ^{18}FDG یک لکه به قطر ۱ میلی‌متر روی کاغذ کروماتوگرافی (روی لایه نازک سیلیکاژل با پایه پلیمر به ابعاد ۲/۵ در ۱۲ سانتی‌متر) توسط یک لوله باریک شیشه‌ای قرار دادیم و سپس در حلال آب - استونیتریل (۵٪ - ۹۵٪ حجمی) در یک تانک کروماتوگرافی به ابعاد ۱۰×۷×۱۵ سانتی‌متر گسترش داده شد. پس از گسترش حلال تا ۳ ربع کروماتوگرام، آنرا خارج کرده در جریان هوا خشک کرده، روی یک دستگاه خودکار بررسی‌کننده جز به جز کروماتوگرام (Chromatogram auto scanner) مرتبط به یک محاسبه‌گر هسته‌ای چند کاناله (Multi Channel Analizer) که در فواصل ۱۲ ثانیه‌ای ۸ میلی‌متر کاغذ را اسکن کرده به صورت شمارش در ثانیه ثبت می‌کند قرار داده شد. نهایتاً در یک نمودار دو بعدی درصد نسبی شمارش در برابر مسافت کروماتوگرام رسم گردید (نمودار ۱).

ج) خلوص رادیو نوکلایدی: برای این روش از طیف‌سنجی گاما استفاده شد. حجمی معادل ۰/۱ میلی‌لیتر نمونه تولیدی مقابل دتکتور ژرمانیوم بسیار خالص قرار گرفت که فتوپیک انرژی در ۰/۵۱۱ و ۱/۰۲ Mev(میلیون الکترون ولت) دیده می‌شد که مؤید وجود عنصر پوزیترون دهنده بود. برای اطمینان از وجود فلوئور-۱۸ اندازه‌گیری شمارش در ثانیه در زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ دقیقه انجام گرفت و پس از رسم نمودار حاصل، زمانی که شمارش به نصف مقدار اولیه رسید روی منحنی ظاهر شد که معادل ۱۱۱/۵ دقیقه بوده و مؤید وجود ^{18}F می‌باشد (۱۰).

د) کنترل pH: اسیدیته محلول حاصل از تولید حدود ۴/۵ می‌باشد که توسط شناساگر یونیورسال ساخت کمپانی Merck اندازه‌گیری شد. با ترکیب نسبت حجمی یک به یک محلول، با محلول بافر فسفات اسیدیته محلول به حدود ۶/۵ رسید که قابل قبول است.

نتایج

براساس فارماکوپه ایالات متحده محلول تزریقی ^{18}FDG باید یک محلول استریل و غیر تب‌زا و حاوی حداقل ۱ کوری بر میلی‌مول (۳۷×۱۰۳ مگابکرل) اکتیویته اختصاصی و حداقل ۹۰ و حداکثر ۱۱۰ درصد اکتیویته به فرم ^{18}F-FDG در محلول موجود باشد که می‌تواند حاوی یا فاقد ماده پایدارکننده باشد. بر چسب روی محصول باید حاوی مندرجات زیر باشد:

۱ – زمان و تاریخ کالیبراسیون

۲ – مقدار اکتیویته ^{18}F برحسب مگابکرل در میلی‌لیتر

۳ – تاریخ انقضاء

۴ – نوع و مقدار ماده افزودنی (در صورت وجود)

۵ – علامت رادیواکتیویته

۶ – عبارت (عدم استفاده در صورت مشاهده رسوب یا کدورت) باید درج گردد.

کنترل کیفی باید نتایج زیر را بدست دهد:

الف) تعیین خلوص شیمیایی: عدم مشاهده هرگونه جذب پایدار بد در کروماتوگرام حاصل از نمونه تزریقی در دو سیستم مختلف کروماتوگرافی در R_fهای داده شده در جدول ۲. به طور خلاصه فرمول زیرحد دوری از خطر (A) را در صورت عدم مشاهده لکه ید در غلظت C کریپتوفیکس بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر برای شخص W کیلوگرمی نشان می‌دهد:

$$A = 35\ W/C$$

براساس جدول ۱ در دو غلظت بیشینه و کمینه در صورت عدم مشاهده جذب ید در R_f=۰/۳۷ در سیستم حلال ۱ بترتیب ۵۰۰۰ برابر زیر مقدار خطرناک و ۱۴۵۰۰۰ برابر زیر غلظت خطرناک کریپتوفیکس خواهیم داشت (۹).

ب) کنترل رادیو شیمیایی: براساس فارماکوپه امریکا حداقل ۹۰٪ اکتیویته در محلول باید به فرم FDG باشد که با کنترل رادیو کروماتوگرام (نمودار ۱) شرایط فوق تأیید می‌گردد (۱۱).

ج) خلوص رادیو نوکلایدی: بایستی دو فتوپیک ۰/۵۱۱ Mev و ۱/۰۲ در طیف گاما در مجاورت ژرمانیوم فوق خالص مشاهده گردد، ضمن این که نیمه عمر بایستی حداقل ۱۰۵ و حداکثر ۱۱۵ دقیقه بدست آید.

د) کنترل pH: اسیدیته محلول تزریقی FDG باید در حدود ۵/۵ تا ۸/۵ باشد که با افزودن بافر فسفات اسیدیته تنظیم گردید (۱۱).

بحث

رادیو داروی FDG در حال حاضر با پاسخ مثبت کلیه آزمایش‌های کیفی، در حال تولید آزمایشی بسر می‌برد. نمودار ۳ نتایج بازده ۹ بار تولید رادیو دارو را در تاریخ‌های مختلف نشان می‌دهد. همانطور که از جدول ۳ مشخص است اکتیویته بخش‌های مختلف تولید و رادیو دارو تعیین شده است. اکتیویته محصول بین ۲۸ تا ۷۳ میلی‌کوری متفاوت است که میانگین آن در حدود ۵۴ میلی‌کوری می‌باشد. بازده شیمیایی تولید ^{18}FDG در مجموع دو مرحله ۶۰ درصد است بنابراین اکتیویته اختصاصی آن در حدود ۲۱۶۰ Ci/mmole

می‌باشد. ملکول مذکور بسیاری از موارد مجهول تشخیص کلینیکی بیماری‌های عصبی را پاسخگو است. بررسی‌های بیشتر روی بازده رادیو شیمیایی در حال انجام است.

حضور ناخالصی‌های مثل ۲-فلوروتترااستیل گلوکز(۲) و یا تترا-O-استیل ۲-تریفلات - β - D - مانوز (۱) بطور کامل مردود بوده و فرم اکتیو نیز بیش از ۹۰٪ ^{18}FDG است که کاملاً خالص بوده قابل تجویز است.

تشکر و قدردانی

گروه کارگردانی رادیوایزوتوپ و سیکلوترون زحمات زیادی در انجام بمباران‌ها متحمل شدند. موفقیت پروژه مرهون طراحی و ساخت دستگاه جستجوگر کروماتوگرام توسط آقایان مهندس علی‌اکبر جعفری خرمی و مهندس عبدالرحیم پرتوی می‌باشد. همچنین از زحمات مهندس رامین آقاجعفری در رفع نواقص تکنیکی کمال تشکر را داریم.

جدول - ۱ : رابطه بین غلظت کریپتوفیکس و پاسخ رنگی به ید در کروماتوگرافی روی لایه نازک.

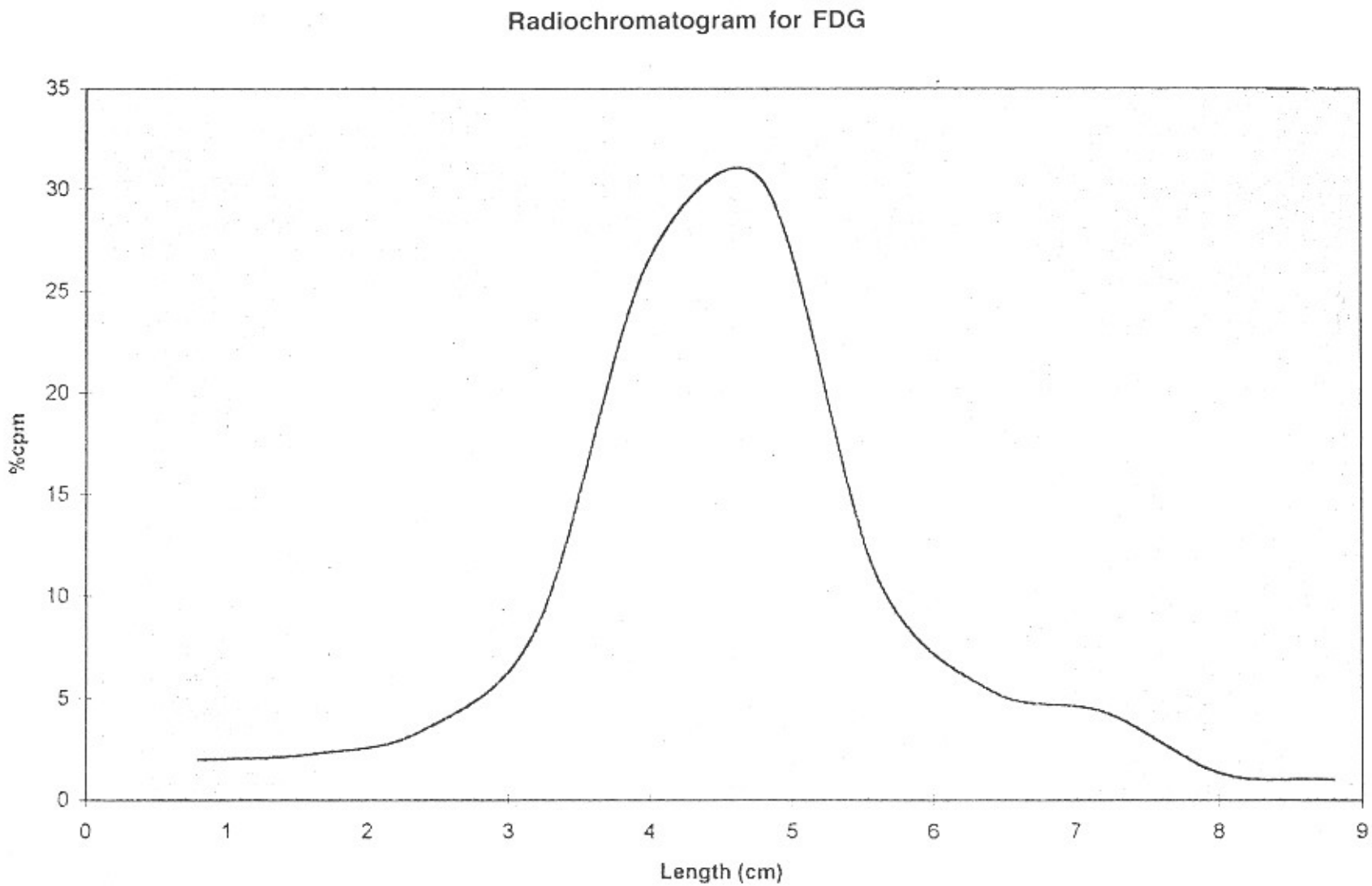
پاسخ رنگی به بخار ید	غلظت کریپتوفیکس (mg/ml)
++++	۰/۵
++++	۰/۲۵
+++	۰/۱۲۵
++	۰/۰۵
+	۰/۰۲۵
-	۰/۰۱۷

جدول - ۲ : Rfهای مختلف برای کروماتوگرافی روی لایه نازک کریپتوفیکس و FDG در دو محیط حلال متفاوت.

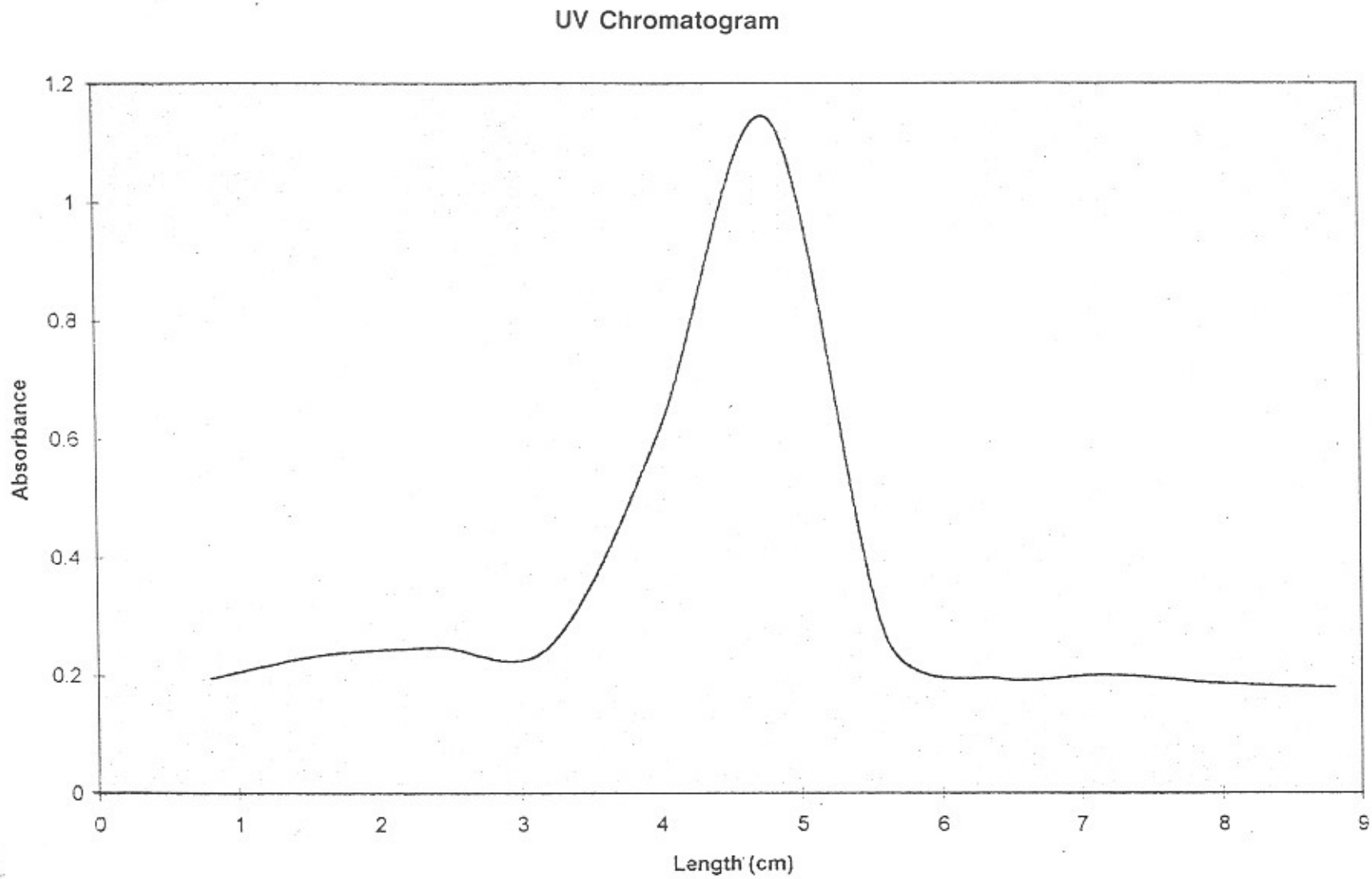
حلال	کریپتوفیکس Rf	Rf FDG
متانول /هیدروکسید آمونیم	۰/۳۷	۰/۸۳
اتیل استات /اتانول	۰/۰۰	۰/۵۲

جدول - ۳ : توزیع اکتیویته (mG) در بخش‌های مختلف تولید شیمیایی طی تولید در تاریخ‌های متعدد.

	18FDG	Al2O3	C18	Resin	SiO2	Reactor 1	Reactor 2
21.05.97	56	5	5	7	16	4	7
21.05.97	51	4	4	5	26	2	8
08.09.97	33	3	4	3	41	1	15
09.09.97	28	1	14	30	12	1	14
10.09.97	73	2	2	0	10	2	10
10.09.97	62	2	2	2	18	3	11
11.09.97	68	1	3	1	18	1	7
12.09.97	63	1	3	1	18	2	12

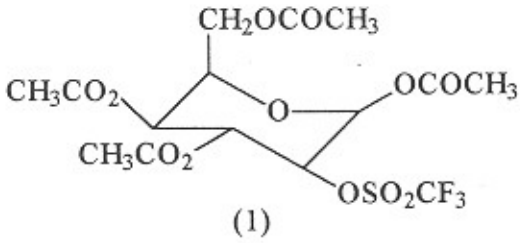


نمودار - ۱ : درصد نسبی شمارش کروماتوگرام نمونه ^{18}F]-2-FDG [در واحد طول کروماتوگرام.

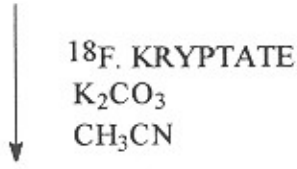


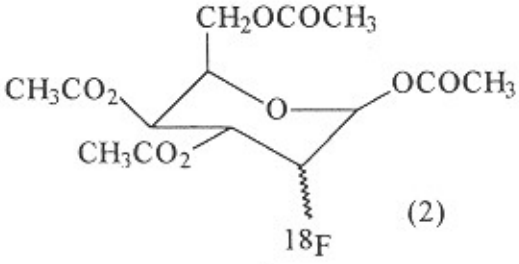
نمودار - ۲ : جذب UV کروماتوگرام در طول موج ۲۵mm نمونه $[^{18}F]$-2-FDG در واحد طول.

Scheme:

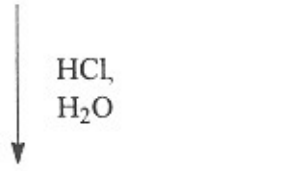


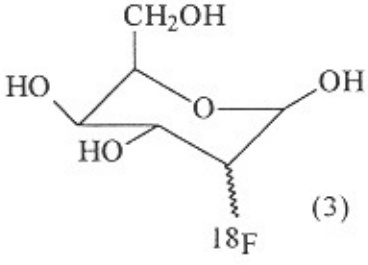
(1)





(2)



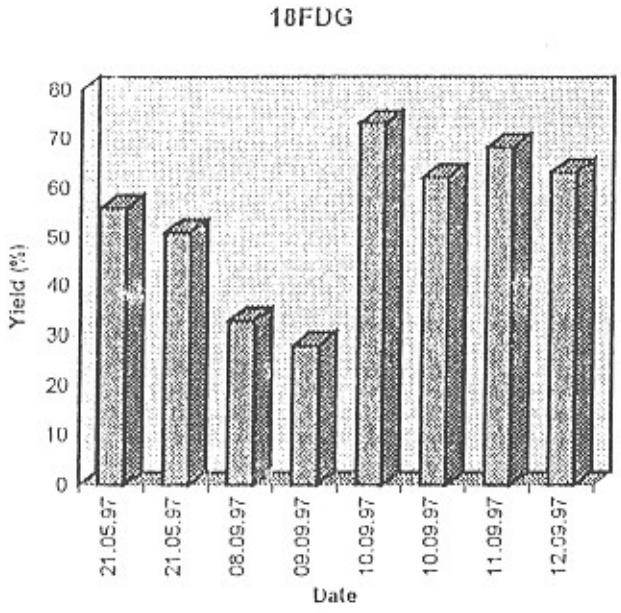


(3)

^{18}F-FDG

Purification

Administration



نمودار - ۳ : بازده رادیو شیمیایی تولید [^{18}F]-2-FDG در چند تولید مختلف.

منابع

1 - Hamacher K, ^{18}FDG production via nucleophilic substitution. J. Nucl. Med. 1986; 27:235.

2 - Hamacher K, Blessing G, Robatic production of ^{18}FDG for hospital use. J. Label. Compds. Radiopharm. 1992; 23:1095.

3 - Schlyer D J, Bastus M A, Fluorine-18 anion recovery from aqueous solutions by anion exchange resins; Applied. Radiat. Isot. 1990; 41:531.

4 - Tewson T J, Welch M J, Production of fluorine-18 via ^{18}O-water proton bombardment in synthesis of radiopharmaceuticals; J. Nucl. Med. 1978; 19:1339.

5 - Stocklin R, Positron emission tomography (a review); Eur. J. Nucl. Med. 1992; 19:527.

6 - Phelps M E, Hoffman E J, Positron detection via multi crystal scintilators. 1995; 16:210.

7 - Clarck J C, Silvester D J, Fluorine complexes in synthesis; Int. J. Appl. Radiat. Isot. 1996; 17:151.

8 - Helferich B, Zirner J., Synthesis of tetraacetyl mannopyranose. Ber. 1962; 95:2604.

9 - Chaly T. Dahl R, Thin layer chromatography detection of kryptofix in the route synthesis of [^{18}F]-2-fluoro-2-deoxy-D-glucose; Nucl. Med. Biol. 1989; 4:385.

10 - Spencer D, Gordon J, Gamma spectroscopy of positron emitters. 1992; 43:1313.

11 - European Pharmacopoeia Commission Dec. 1996.