



تعیین غلظت کریپتوفیکس ۲، ۲، ۲ در رادیوداروی $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$

مهدی اخلاقی*، امیررضا جلیلیان

بخش سیکلوترون و پزشکی هسته‌ای، پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۴۹۸-۳۱۴۸۵، کرج - ایران

چکیده: غلظت کریپتوفیکس ۲، ۲، ۲ در محلول‌های $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ و استانداردهای کریپتوفیکس ۲، ۲، ۲ به دو روش آشکارسازی (ترکیب کریپتوفیکس ۲، ۲، ۲) با بخار ید و معرف یدوپلاتینات تعیین شد. در هر دو روش، تفاوت غلظت محلول‌های کریپتوفیکس، به صورت تفاوت در شدت رنگ لکه‌های آشکار شده بر روی TLC نمایان شد. حد تشخیص کریپتوفیکس با بخار ید و معرف یدوپلاتینات به ترتیب ۲۵ppm و ۲ppm می‌باشد. هر دو روش را می‌توان برای پذیرش یا عدم پذیرش کیفیت رادیودارو برای تزریق وریدی بکار برد، اما روش دوم به علت نتیجه‌گیری در مدت زمان کوتاه‌تر، مناسب‌تر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ کنترل کیفیت، کریپتوفیکس، بخار ید، یدو پلاتینات، حد تشخیص، کروماتوگرافی لایه نازک

Determination of Kryptofix 2.2.2 Concentration in $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ Radiopharmaceutical

M. Akhlaghi*, A.R. Jalilian

Cyclotron and Nuclear Medicine Department, Agricultural, Medical and Industrial Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O. Box: 31485-498, Karaj - Iran

Abstract: Concentration of kryptofix 2.2.2 in $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ solutions and standard solutions of kryptofix 2.2.2 was determined by two methods: Visualization of combination of K2.2.2 with iodine vapor and iodoplatinate reagent. In both methods, concentration difference of K2.2.2 solutions was appeared as difference in color intensity of revealed spots on TLC. The detection limit of K2.2.2 by iodine vapor and iodoplatinate reagent is 25 and 2 ppm, respectively. Both methods can be used to release or reject the quality of $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ radiopharmaceutical for intravenous injection, but the second method is more suitable because of taking shorter time.

Keywords: $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$, Quality Control, Kryptofix 2. 2. 2, Iodine Vapor, Iodoplatinate, Detection Limit, Thin Layer Chromatography



۱- مقدمه

۲- [^{18}F] - فلئورو - ۲ - داکسی - D - گلوکز مهمترین رادیوداروی مورد استفاده در توموگرافی گسیل پوزیترون (PET) می‌باشد. استفاده گسترده این رادیودارو مستلزم تولید روزمره، فرمول‌بندی و کنترل کیفیت آن برای امکان تزریق و ریدی می‌باشد. روش متداول تولید رادیوداروی [^{18}F]FDG به کارگیری ترکیب شیمیایی ۴، ۷، ۱۳، ۱۶، ۲۱، ۲۴-هگزاکسا-۱، ۱۰- دی آزا بی سیکلو- [۸،۸،۸]- هگزاکوسان^(۱) کریتوفیکس ۲،۲،۲^(۲) به عنوان کاتالیزور انتقال فاز برای تسریع واکنش جایگزینی یون فلئورید-۱۸ با گروه ترک‌کننده در ترکیب ۱، ۳، ۴، ۶- تترا -O-استیل-۲-O- تری فلئورو- متان سولفونیل-β-D-مانوپیرانوز^(۳) می‌باشد [۱].

دز کشنده یا LD₅₀ (مقداری از ترکیب که باعث نابودی ۵۰٪ از حیوانات آزمایشگاهی می‌شود) ترکیب کریتوفیکس ۲،۲،۲ در موش‌ها معادل ۳۵mg/kg می‌باشد [۲ و ۳]. مقدار مجاز کریتوفیکس در محلول FDG بر اساس دارونامه‌های اروپا و ایالات متحده، ۲/۲ میلی‌گرم در بالاترین حجم محلول [^{18}F]FDG می‌باشد. در دارونامه ایالات متحده بالاترین حجم محلول [^{18}F]FDG معادل با ۴۴ml در نظر گرفته شده و با توجه به آن غلظت مجاز کریتوفیکس، ۵۰ppm تعیین شده است [۴، ۵ و ۶]. به دلیل سمی بودن این ترکیب تلاش‌های زیادی برای بهبود روش تولید [^{18}F]FDG در راستای کاهش مقدار این ترکیب در محصول نهایی، همچنین روش‌های اندازه‌گیری آن شده است [۷ تا ۱۲].

روش کروماتوگرافی روی لایه نازک (TLC) عمومی‌ترین روش پیشنهاد شده برای تعیین مقدار کریتوفیکس ۲،۲،۲ در محلول [^{18}F]FDG است [۴، ۵، ۶] و [۱۰، ۱۱ و ۱۲]. چالی و داهل در سال ۱۹۸۹ با نمونه‌گذاری ۲μl از محلول [^{18}F]FDG و محلولهای استاندارد کریتوفیکس ۲،۲،۲ بر روی لایه TLC سیلیکاژلی و به دنبال آن انجام کروماتوگرافی در محلول متانول و آمونیاک (۳۰٪) با نسبت حجمی ۹ به ۱ و در نهایت استفاده از بخار ید برای آشکارسازی کریتوفیکس ۲،۲،۲ موفق به اندازه‌گیری این ترکیب تا حساسیت ۲۵ppm شده‌اند [۱۰]. الکساف و همکارانش در سال ۱۹۹۱ با نمونه‌گذاری ۵μl از محلولها و استفاده از اسپری محلول یدوپلاتینات برای

آشکارسازی کریتوفیکس ۲،۲،۲، به جای بخار ید، حساسیت اندازه‌گیری را تا ۲/۵ppm افزایش دادند [۱۱]. ماک و همکارانش در سال ۱۹۹۷ با نمونه‌گذاری ۲μl از محلول [^{18}F]FDG و محلولهای استاندارد کریتوفیکس ۲،۲،۲ بر روی TLC که از پیش با محلول یدوپلاتینات اشباع شده بود با حذف مرحله شستشوی لایه TLC، زمان لازم برای انجام اندازه‌گیری را تا ۵ دقیقه کاهش دادند [۱۲].

در این پژوهش به بررسی عملی و مقایسه روشهای ارایه شده برای اندازه‌گیری مقدار کریتوفیکس ۲،۲،۲ در کنترل کیفی روزمره رادیوداروی [^{18}F]FDG تولید شده در بخش سیکلوترون و پزشکی هسته‌ای پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی سازمان انرژی اتمی ایران می‌پردازیم.

۲- مواد و روشها

۲-۱ تهیه استانداردهای کریتوفیکس ۲،۲،۲

کریتوفیکس ۲،۲،۲ با خلوص بالاتر از ۹۹٪ (Product. No. 52910) از شرکت فلوکا تهیه شد. محلولهای اصلی کریتوفیکس ۲،۲،۲ با غلظت ۱۰۰۰ppm در آب مقطر و محلول کلرید سدیم (۰/۹٪) تهیه شدند. محلولهای استاندارد کریتوفیکس ۲،۲،۲ در آب مقطر و محلول کلرید سدیم (۰/۹٪) با غلظت‌های ۱، ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۹۰، ۱۱۰، ۱۳۰، ۱۵۰، ۱۸۰، ۲۰۰، ۲۲۰، ۲۳۰ و ۲۵۰ppm با رقیق‌سازی محلولهای اصلی در آب مقطر و محلول کلرید سدیم (۰/۹٪) نیز تهیه شدند.

۲-۲ تهیه معرفهای آشکارسازی کریتوفیکس ۲،۲،۲

TLC سیلیکاژلی با زیر لایه پلاستیکی، ید، هگزاکلروپلاتینات و یدید پتاسیم از شرکت Merck خریداری شدند. فضای اشباع از بخار ید با قرار دادن ۱/۵g ید جامد در یک ظرف در بسته ۱۰۰۰ میلی‌لیتری ایجاد گردید. برای تهیه محلول یدوپلاتینات، ۲۳۰mg هگزاکلروپلاتینات در ۵ml اسید کلریدریک ۱ نرمال حل گردید و به محلول بدست آمده ۳g یدید پتاسیم افزوده شد و در نهایت حجم کل آن با آب مقطر به ۱۰۰ml رسانده شد. محلول نهایی بدست آمده تا قبل از استفاده در تاریکی نگهداری شد. برگ‌های TLC اشباع شده از



نسبت حجمی ۱ به ۵ قرار داده شدند. بعد از بالا رفتن حلال به اندازه ۱۱ سانتی‌متر، TLCها برداشته شدند و با جریان هوا خشک گردیدند. برای آشکارسازی کریپتوفیکس یکی از TLCها در ظرف اشباع از بخار ید گذاشته شد و دیگری در محلول یدوپلاتینات فرو برده شد.

۳- یافته‌ها و بحث

۳-۱ آشکارسازی با بخار ید

لکه‌های کریپتوفیکس ۲،۲،۲ بر روی TLC در آشکارسازی با بخار ید به صورت لکه‌های تیره در زمینه قهوه‌ای روشن نمایان شدند. حساسیت آشکارسازی با بخار ید ۲۵ ppm است و شدت رنگ لکه‌ها با افزایش غلظت بیشتر می‌شود. R_f کریپتوفیکس ۲،۲،۲ و FDG در حلال متانول: آمونیاک ۳۰٪ با نسبت ۹ به ۱، به ترتیب ۰/۳۵ و ۰/۸ است و مدت اندازه‌گیری در حدود ۳۵ دقیقه می‌باشد.

۳-۲ آشکارسازی با یدوپلاتینات

لکه‌های کریپتوفیکس ۲،۲،۲ بر روی TLC در آشکارسازی با معرف یدوپلاتینات، در هر دو روش نمونه‌گذاری بر روی TLC اشباع شده با معرف یدوپلاتینات و فروبردن در معرف یدوپلاتینات بعد از نمونه‌گذاری به صورت لکه‌های تیره در زمینه صورتی نمایان شدند. تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین دو روش مشاهده نشد. حساسیت آشکارسازی با معرف یدوپلاتینات ۲ ppm است. شدت رنگ لکه‌ها با افزایش غلظت بیشتر می‌شود اما در غلظت‌های بالاتر از ۱۵۰ ppm، اختلاف شدت رنگ متمایز نیست. شکل ۱ لکه‌های کریپتوفیکس ۲،۲،۲ نمایان شده با معرف یدوپلاتینات را نشان می‌دهد.

۳-۳ تداخل حضور FDG در شدت رنگ کریپتوفیکس ظاهر شده با معرف یدوپلاتینات

بر روی TLC قرار داده شده در ظرف بخار ید برای نمونه‌های FDG، دو لکه نمایان شده که یکی مربوط به کریپتوفیکس و موازی با لکه استانداردهای کریپتوفیکس و دیگری مربوط به FDG است. R_f کریپتوفیکس ۲،۲،۲ و FDG در حلال اتانول: اتیل استات با نسبت ۱ به ۵، به ترتیب صفر و ۰/۵ است [۱۰]. به سبب جدا شدن FDG از کریپتوفیکس بر روی TLC، تداخلی

معرف یدوپلاتینات با فروبردن تکه‌های ۵×۵ سانتی‌متری از TLC به مدت ۱۰س در محلول یدوپلاتینات و خشک کردن با جریان ملایم هوا تهیه و تا قبل از استفاده در ظرفی با امکان جریان هوا نگهداری شد [۱۲ و ۱۳].

۲-۳ اندازه‌گیری کریپتوفیکس ۲،۲،۲ با بخار ید

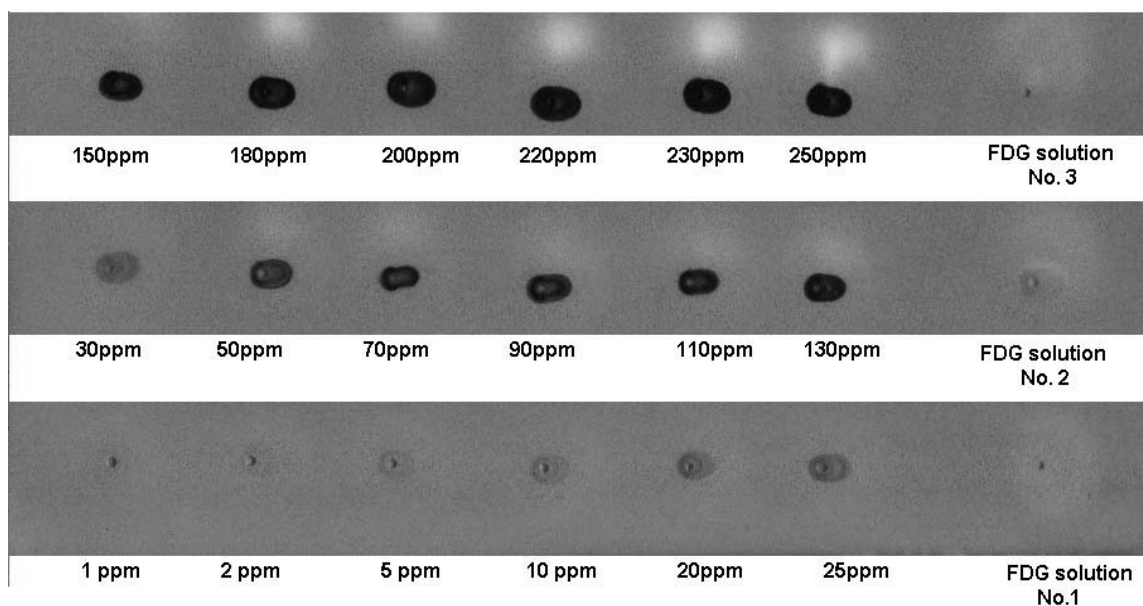
بر روی یک ورقه TLC (۱۲×۱۲ cm)، نمونه‌های ۲ میکرولیتری از استانداردهای کریپتوفیکس ۲،۲،۲ و محلولهای FDG، به موازات هم در فاصله ۱ cm از پایین TLC لکه‌گذاری شد. بعد از خشک شدن لکه‌ها با جریان هوا، TLC در ظرف حاوی حلال متانول و آمونیاک (۳۰٪) با نسبت حجمی ۹ به ۱ قرار داده شد تا حلال به اندازه ۱۱ cm بالا رود. بعد از بالا رفتن حلال، TLC با جریان هوا خشک گردید. در نهایت، TLC برای آشکارسازی کریپتوفیکس ۲،۲،۲ در ظرف بخار ید قرار داده شد [۱۰].

۲-۴ اندازه‌گیری کریپتوفیکس ۲،۲،۲ با یدوپلاتینات

اندازه‌گیری کریپتوفیکس ۲،۲،۲ با معرف یدوپلاتینات به دو روش انجام گرفت. در روش اول از استانداردهای کریپتوفیکس ۲،۲،۲ تهیه شده در آب مقطر و کلرید سدیم (۹/۰٪)، همچنین از محلولهای FDG، بر روی TLC لکه‌گذاری شد. لکه‌های روی TLC با جریان هوا خشک شدند. در نهایت، TLC برای آشکارسازی کریپتوفیکس ۲،۲،۲ به درون معرف یدوپلاتینات فرو برده شد. در روش دوم از استانداردهای کریپتوفیکس ۲،۲،۲ و محلولهای FDG برای آشکارسازی کریپتوفیکس ۲،۲،۲، مستقیماً بر روی برگ TLC که از قبل با معرف یدوپلاتینات اشباع شده بود لکه‌گذاری شد. مقدار نمونه‌ها در هر دو روش ۲ μL بود [۱۲].

۲-۵ تداخل ترکیب FDG در شدت رنگ کریپتوفیکس با معرف یدوپلاتینات

برای بررسی تداخل ترکیب FDG در شدت رنگ لکه‌های کریپتوفیکس در روش آشکارسازی با یدوپلاتینات، دو برگ TLC (۱۲×۶ cm) آماده گردید. در فاصله یک سانتی‌متری از پایین TLCها ۲ μL از استانداردهای کریپتوفیکس ۲،۲،۲ و محلولهای FDG لکه‌گذاری شدند. لکه‌ها با جریان هوا خشک شدند و TLCها در ظرف حاوی حلال اتانول و اتیل استات با



شکل ۱- لکه‌های کریبتوفیکس نمایان شده بر روی TLC با آشکارساز یدوپلاتینات.

یدوپلاتینات و آشکارسازی با معرف یدوپلاتینات بعد از شستشوی TLC با محلول اتانول: اتیل استات در جدول ۱ درج شده است.

مقایسه نتایج بدست آمده از روشهای آشکارسازی با بخار ید و معرف یدوپلاتینات نشان داد که روش دوم حساسیت بالاتر و مدت زمان کوتاه‌تری برای تعیین غلظت کریبتوفیکس دارد. همچنین حضور FDG تداخلی در شدت رنگ لکه نمایان شده در آشکارسازی با معرف یدوپلاتینات ندارد.

بین FDG و کریبتوفیکس وجود ندارد. همچنین به علت جابجا نشدن کریبتوفیکس شکل ظاهری لکه‌های کریبتوفیکس تغییر نکرده‌اند. بر روی TLC فرورده شده در معرف یدوپلاتینات برای نمونه‌های FDG، فقط یک لکه، موازی با لکه استانداردهای کریبتوفیکس نمایان شده است و ترکیب FDG با یدوپلاتینات لکه رنگی ایجاد نکرده است.

نتایج بدست آمده برای نمونه‌های FDG با روشهای آشکارسازی با بخار ید، آشکارسازی مستقیم با معرف

جدول ۱- غلظت‌های کریبتوفیکس ۲،۲ اندازه‌گیری شده در چند سری محلول FDG با روشهای آشکارسازی با بخار ید و معرف یدوپلاتینات (بطور مستقیم و بعد از کروماتوگرافی با محلول اتانول: اتیل استات).

شماره نمونه	غلظت اندازه‌گیری شده با بخار ید-ppm	غلظت اندازه‌گیری شده با معرف یدوپلاتینات-ppm	غلظت اندازه‌گیری شده با معرف یدوپلاتینات(بعد از کروماتوگرافی با محلول اتانول: اتیل استات)-ppm
۱	< ۳۰	< ۲	< ۲
۲	< ۳۰	~ ۱۵	~ ۱۵
۳	< ۳۰	< ۲	< ۲
۴	< ۳۰	~ ۱۰	~ ۱۰
۵	~ ۴۰	~ ۴۰	~ ۴۰
۶	< ۳۰	~ ۵	~ ۵
۷	< ۳۰	~ ۲۵	~ ۲۵
۸	< ۳۰	~ ۲۵	~ ۲۵
۹	< ۳۰	~ ۲۰	~ ۲۰
۱۰	~ ۴۰	~ ۴۰	~ ۴۰



پی‌نوشت‌ها:

- ۱- 4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazobicyclo-(8,8,8)hexacosane
 ۲- Kryptofix 2. 2. 2
 ۳-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-trifluoromethanesulfonyl-beta-D-mannopyranose

۴- نتیجه‌گیری

هر دو روش ارائه شده در متون علمی را می‌توان برای تعیین غلظت کریپتوفیکس ۲,۲,۲ در محلول FDG و پذیرش یا عدم پذیرش کیفیت رادیودارو برای تزریق وریدی بکار برد. روش آشکارسازی با یدوپلاتینات در مدت کمتری نسبت به روش آشکارسازی با بخار ید انجام می‌گیرد و برای رادیوداروی FDG که نیمه‌عمری برابر با ۱۰۹/۷ دقیقه دارد مناسبتر می‌باشد.

References:

1. K. Hamacher, H.H. Coenen, G. Stocklin, "Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2-[¹⁸F]fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution," *J. Nucl. Med.*, **27**(2), 235-238 (1986).
2. R.J. Lewis, R.L. Tatken, "Registry of toxic effect of chemical substances," US Department of Health and Human Services, **1** (1979).
3. 4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazobicyclo-(8,8,8)hexacosane (Kryptofix 222) [material safety data sheet], Sigma-Aldrich (2000).
4. Fludeoxyglucose (¹⁸F) injection. In: *European Pharmacopeia*. **4th** ed, 2316-2319 (2002).
5. Fludeoxyglucose F 18 injection. In: *The United States Pharmacopeia*, **25th** ed, 752-753 (2002).
6. J.C. Hung, "Comparison of various requirements of the quality assurance procedures for ¹⁸F-FDG injection," *J. Nucl. Med.*, **43**(11), 1495-1506 (2002).
7. S.M. Moerlein, J.W. Brodack, B.A. Siegel, M.J. Welch, "Elimination of contaminant Kryptofix 2.2.2 in the routine production of 2-[¹⁸F]fluoro-2-deoxy-D-glucose," *Int. J. Rad. Appl. Instrum. A*, **40**(9), 741-743 (1989).
8. Y. Ma, B.X. Huang, M.A. Channing, W.C. Eckelman, "Quantification of kryptofix 2.2.2 in 2-[¹⁸F]FDG and other radiopharmaceuticals by LC/MS/MS," *Nucl. Med. Biol.*, **29**(1), 125-129 (2002).
9. R.A. Ferrieri, D.J. Schlyer, D.L. Alexoff, J.S. Fowler, A.P. Wolf, "Direct analysis of Kryptofix 2.2.2. in ¹⁸FDG by gas chromatography using a nitrogen-selective detector," *Nucl. Med. Biol.*, **20**(3), 367-369 (1993).
10. T. Chaly, J.R. Dahl, "Thin layer chromatographic detection of kryptofix 2.2.2 in the routine synthesis of [¹⁸F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose," *Int. J. Rad. Appl. Instrum. B*, **16**(4), 385-387 (1989).
11. D.L. Alexoff, J.S. Fowler, S.J. Gatley, "Removal of the 2.2.2 cryptand (kryptofix 2.2.2TM) from ¹⁸FDG by cation exchange," *Int. J. Rad. Appl. Instrum. A*, **42**(12), 1189-1193 (1991).
12. B.H. Mock, W. Winkle, M.T. Vavrek, "A color spot test for the detection of Kryptofix 2.2.2 in [¹⁸F]FDG preparations," *Nucl. Med. Biol.*, **24**(2), 193-195 (1997).
13. G. Zwing, J. Sherma, "CRC handbook of chromatography," CRC Press. Cleveland, Ohio, **2**, 113 (1972).