

Introducción

La [¹¹C]-Metionina ([¹¹C]-Met) es un aminoácido marcado con un átomo de carbono 11. Se utiliza como radiofármaco para diagnóstico de tumores cerebrales y el hiperparatiroidismo para realizar un estudio PET-CT. Esta técnica combina la Tomografía por Emisión de Positrones (PET) con la Tomografía Computada (CT) obteniéndose imágenes híbridas (anatómico-funcionales) de gran valor clínico.

El proceso de producción comienza en el ciclotrón (acelerador de partículas), mediante una reacción nuclear en el blanco produce el radionucleido de interés (¹⁴N (p,n)¹¹C). Para la síntesis de [¹¹C]-Met, se produce en el ciclotrón el carbono bajo la forma de ¹¹CO₂, el cual se transfiere hasta un recinto debidamente blindado (celda caliente en área limpia) para asegurar la radioprotección del operario (ver figura 1).

Dentro de esta celda, se ubica un módulo que realiza la síntesis en forma automatizada, el cual es controlado externamente por una PC. En el módulo, el ¹¹CO₂ se transforma a ¹¹CH₃I (agente metilante). Luego se lleva a cabo la reacción de marcación del precursor (metilación) sobre un soporte de fase sólida (SEP-PAK® Light C18) (ver figura 2).

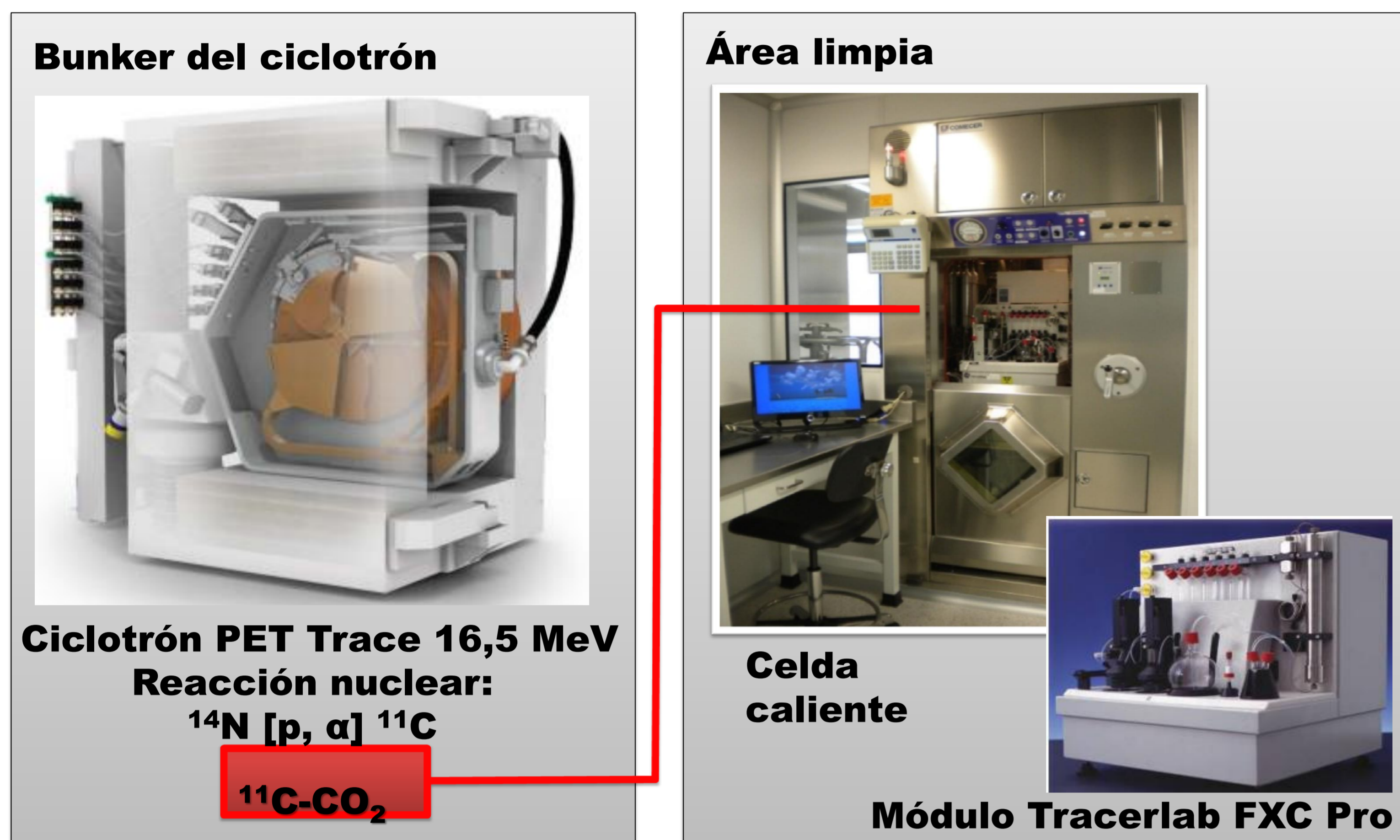


Figura 1: Representación esquemática del ciclotrón y celda caliente

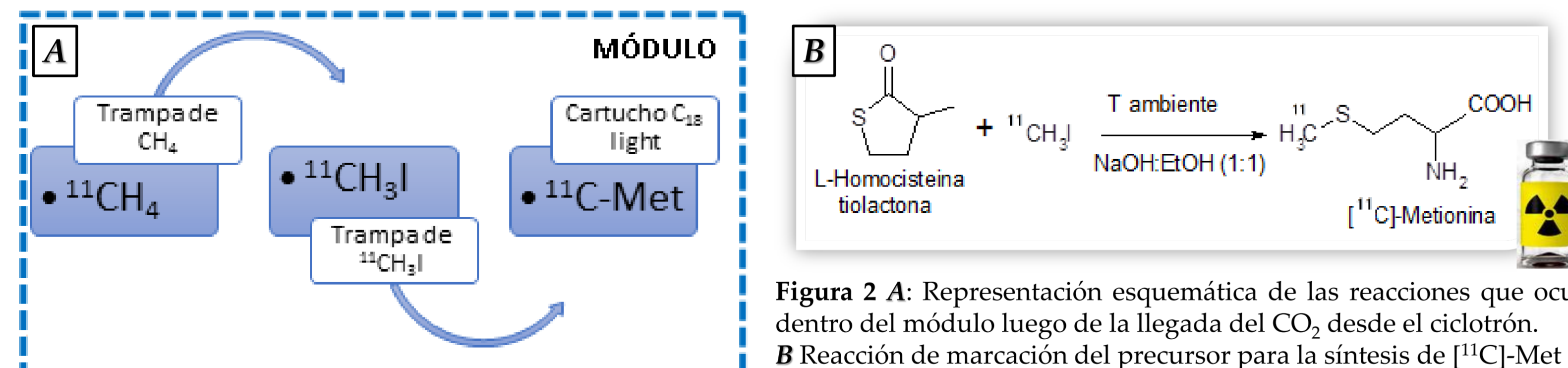


Figura 2 A: Representación esquemática de las reacciones que ocurren dentro del módulo luego de la llegada del CO₂ desde el ciclotrón. B Reacción de marcación del precursor para la síntesis de [¹¹C]-Met.

Objetivo

El objetivo de este trabajo es optimizar el proceso productivo en cuanto al tiempo, actividad producida y pureza radioquímica (PRQ) del radiofármaco para mejorar su performance.

Materiales y métodos

Ciclotrón PET Trace 16.4MeV (GE). Plataforma automática Tracerlab FXC Pro (GE). HPLC Shimadzu®, columna M&N C₁₈ de 5µm (250mm x 4,6mm); detector UV 225nm y gamma; fase móvil A: KH₂PO₄ 1,4g/L; fase móvil B: CH₃CN; flujo 1mL/min; gradiente en B: 0 min a 1%, 6 min a 2%, 10 min a 80%.

1) Acondicionamiento del módulo previo a cada síntesis:

Esta operación asegura que las diferentes trampas estén en condiciones adecuadas para obtener el máximo rendimiento posible. El programa actual es de 120 minutos.

Se evaluaron 3 programas de acondicionamiento de 60, 35 y 25 minutos; para lo cual se produjeron 3 lotes de aproximadamente 1 Ci de [¹¹C]-Met para cada tiempo. Se calculo el rendimiento respecto al ¹¹C-CO₂ y se realizó un estudio estadístico.

2) Actividad producida:

La radiólisis produce la descomposición de las moléculas marcadas por el propio efecto de la radiación. Este efecto depende de la susceptibilidad de la molécula y de la concentración de actividad de la solución. La [¹¹C]-Met es un aminoácido sensible a la oxidación provocada por radiólisis. La síntesis de [¹¹C]-Met actualmente se produce a partir de una actividad de ¹¹C-CO₂ próxima a 3 Ci, con el propósito de mantener un margen de seguridad respecto al posible efecto de la radiólisis.

Se propone evaluar si un aumento en la actividad incide en la PRQ de la [¹¹C]-Met. Se produjeron lotes de irradiación de ¹¹CO₂ de 1 y 5 Ci, (3 lotes para cada actividad) y se efectúa el análisis de PRQ por HPLC del producto final.

Referencias

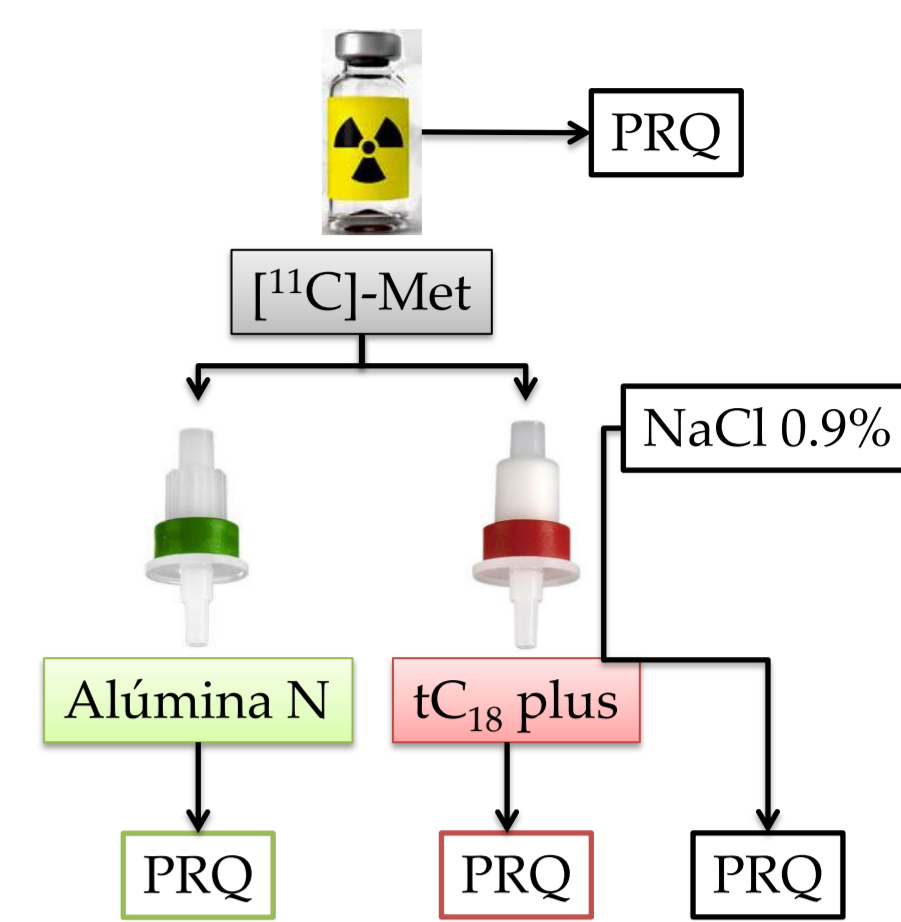
- Página Oficial del Centro Uruguayo de Imagenología Molecular, www.cudim.org, consultada el 26 de Julio de 2017. Documentos: Folleto CUDIM, SM-GC-001-01, Site Master File CUDIM.
- Guía del operador TRACERlab FXC, General Electric Company, 2004
- European Pharmacopeia 8.0 Vol.1, 2014, Monografía de L-¹¹C-Metionina.
- PO-PR-020-01, Síntesis de ¹¹C-Metionina en Tracerlab FXC Pro, Procedimiento operativo, Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM), 2015

3) Método de purificación:

Se plantea disminuir las impurezas radioquímicas mediante la retención de las mismas con cartucho de extracción en fase sólida.

Se sintetiza un lote de [¹¹C]-Met y se calcula la PRQ por HPLC. Se pasan 2 alícuotas el lote de [¹¹C]-Met, una por un cartucho Sep-Pak® Alúmina N y otra por un Sep-Pak® tC₁₈ plus. Se analiza la PRQ de ambos eluidos por HPLC.

Finalmente se realiza una segunda elución del cartucho Sep-Pak® tC₁₈ plus (lavado) con NaCl 0.9% y se analiza por HPLC.



Resultados

1) Acondicionamiento del módulo previo a cada síntesis:

ACO	RENDIMIENTO (%)			Promedio (%)	Des. Est.
	1	2	3		
25	14,3	16,8	13,5	14,9	1,7
35	12,4	16,1	16,6	15,0	2,3
60	16,0	18,3	14,9	16,4	1,7
Promedio global				15,4	

Tabla 1: Rendimientos, promedios y desviación estándar de los lotes sintetizados.

El estudio estadístico (ANOVA con p=0,05) de comparación de medias, revela que el rendimiento de los lotes no muestran diferencia significativa para los diferentes programas de acondicionamiento.

2) Actividad producida:

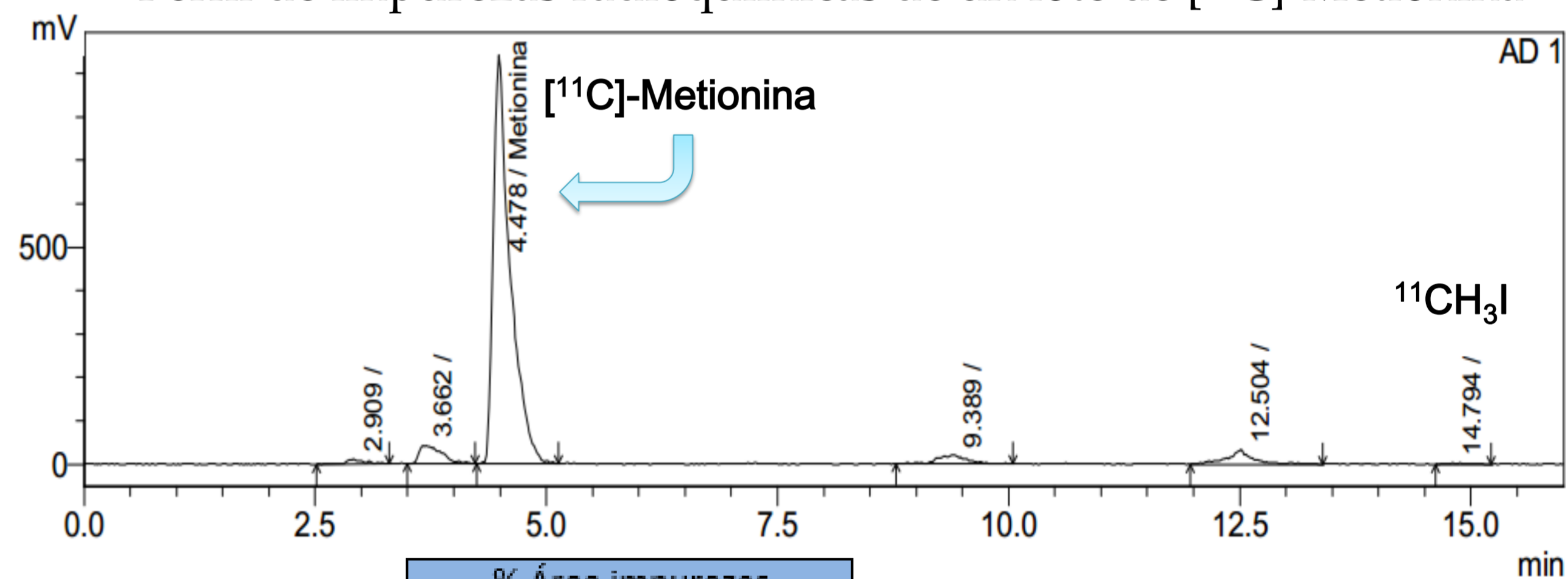
Actividad (Ci)	PRQ (%)			Media (%)	Des. Est.
	1	2	3		
1	88,7	89,0	90,9	89,6	1,2
5	89,0	86,0	86,4	87,1	1,6

Tabla 2: Pureza radioquímica, promedio y desviación estándar de cada lote.

Se realiza un estudio estadístico de comparación de medias (test de Student con p=0,05) y se verifica que un aumento de la actividad producida de [¹¹C]-Met no afecta significativamente la PRQ.

3) Método de purificación:

Perfil de impurezas radioquímicas de un lote de [¹¹C]-Metionina



Purificación	% Área impurezas		%Elución(*)	PQR (%)
	tr=9.4(min)	tr=12.5(min)		
Sin purificación	3.7	3.4	---	87.4
Alúmina N	3.5	4.6	83.7	85.6
C ₁₈ plus	2.4	0.4	68.6	90.1
2ª elución C ₁₈ plus con NaCl 0.9%	4.8	1.2	90.5	86.9

Tabla 3: Pureza radioquímica, promedio y desviación estándar de cada lote.

El cartucho de Alúmina retiene compuestos hidrofílicos, por ello, se busca purificar la [¹¹C]-Met de las especies que eluyen a tiempos de retención menores a 4 minutos. Con el cartucho tC₁₈ plus, que tiene una mayor densidad de cadenas C-18 que el cartucho utilizado en la síntesis, se busca purificar la [¹¹C]-Met de las especies más hidrofóbicas.

El cartucho de Alúmina N no mejora la PRQ de la ¹¹C-Met. El cartucho tC-₁₈ plus logró disminuir la cantidad de impurezas radioquímicas de la [¹¹C]-Met.

La elución del cartucho con NaCl 0.9% demostró no tener mucha utilidad, ya que se vio que arrastra, las especies retenidas de tr=9.4 min y tr=12.5 min, disminuyendo la PRQ del eluido.

En suma: De los resultados anteriores se seleccionó el cartucho tC₁₈ plus colocado previo al filtro esterilizante como método de purificación, obteniéndose una PRQ > 90% gracias a un marcado descenso de la impureza con tr= 12,2 min.

Conclusión

En el presente trabajo se logra optimizar el proceso productivo en los siguientes aspectos:

- ✓ Es posible disminuir el tiempo de acondicionamiento sin afectar la PRQ y el rendimiento.
- ✓ Es posible aumentar a 5 Ci el lote de irradiación sin que se manifieste la radiólisis en el producto final.
- ✓ Se encontró una condición de purificación que permite disminuir las impurezas del radiofármaco.

Agradecimientos

Deseo hacerle llegar mi más sincero agradecimiento al CUDIM por permitirnos realizar el practicantado de fin de carrera en su institución, así como a la Asociación de Química y Farmacia del Uruguay por el apoyo recibo.

