

Heisse Chemie: Qualitätskontrolle von Radiopharmazeutika mit Ionenchromatographen von Metrohm

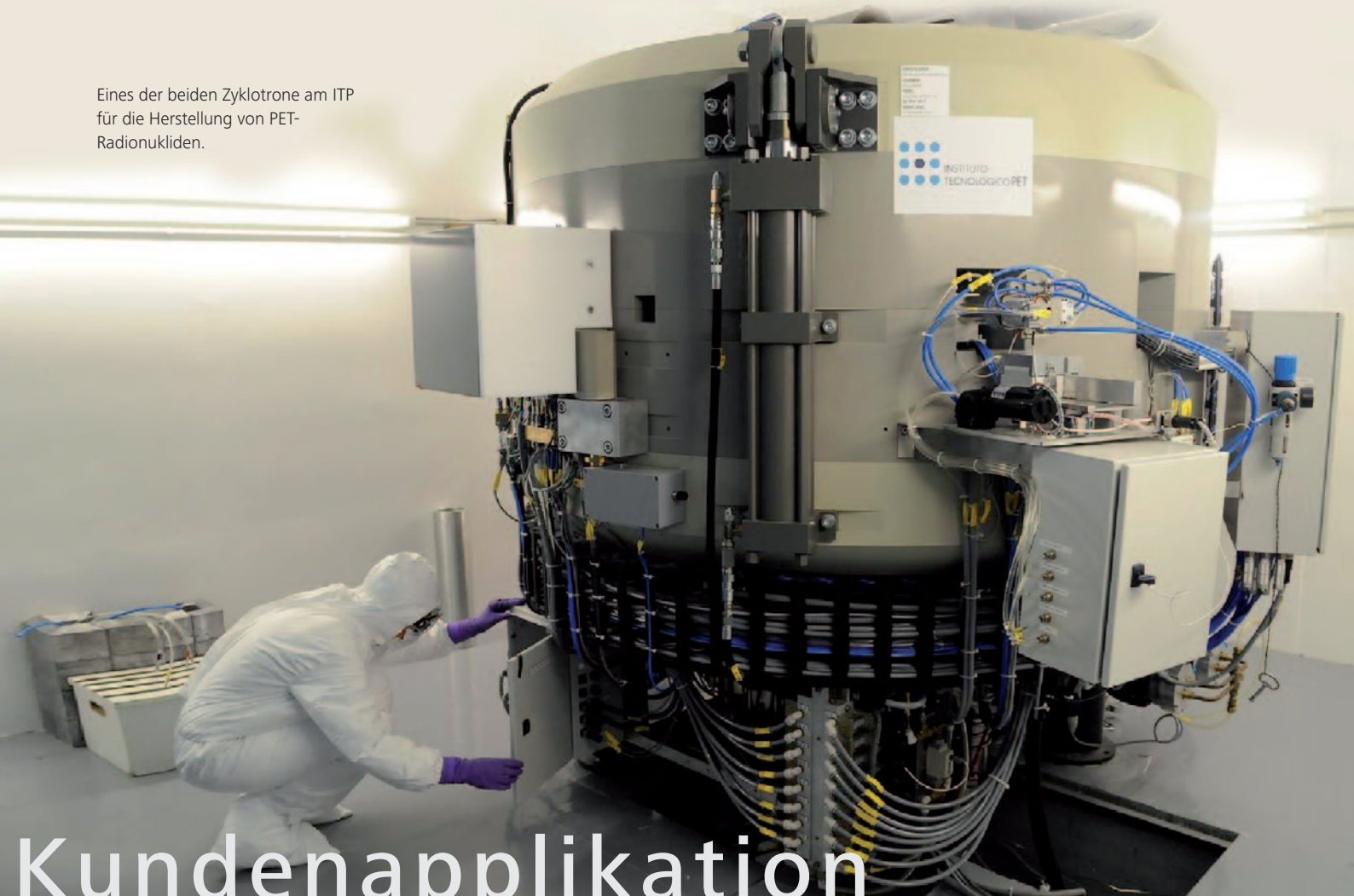
Institut für PET-Technologie, ITP – Spitzentechnologie aus Spanien

Das in Madrid ansässige Instituto Tecnológico PET (Institut für PET-Technologie, ITP) wurde 1994 in enger Kooperation mit der Madrider Complutense-Universität gegründet. Noch im selben Jahr wurde dort das erste Zyklotron Spaniens installiert. Dies war der Startschuss für den Aufbau eines Technologiezentrums, das bei der Entwicklung der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) sowohl in den Bereichen Radiopharmakaherstellung als auch Diagnostik die Vorreiterrolle übernahm. Aktuell ist das IPT das einzige radiopharmazeutische Labor Spaniens, das durch vertikale Integration die gesamte Wertschöpfungskette von Herstellung, Marketing und Vertrieb von Radiopharmaka für die Humanmedizin und zu Forschungszwecken

unter einem Dach vereint. Um die stetig wachsende Nachfrage an radioaktiven Markern (Radiotracer) zu befriedigen, wurde im Juni 2009 ein zweites Labor mit einem weiteren Zyklotron in Betrieb genommen. Seit seiner Gründung hat das ITP rund 25'000 PET-Untersuchungen durchgeführt. Zudem hat es allein seit dem letzten Quartal 2009 fünf neue Radiotracer auf den Markt gebracht.

Eine umfassende Qualitätskontrolle ist bei der Herstellung von Radiotracern besonders wichtig. Die Spezialisten der spanischen Metrohm-Vertretung Gomensoro installierten zur Qualitätskontrolle der drei Radiotracer-Produktionslinien bei ITP ein massgeschneidertes Mehrkanal-Ionenchromatographie-System.

Eines der beiden Zyklotrone am ITP für die Herstellung von PET-Radionukliden.



Kundenapplikation

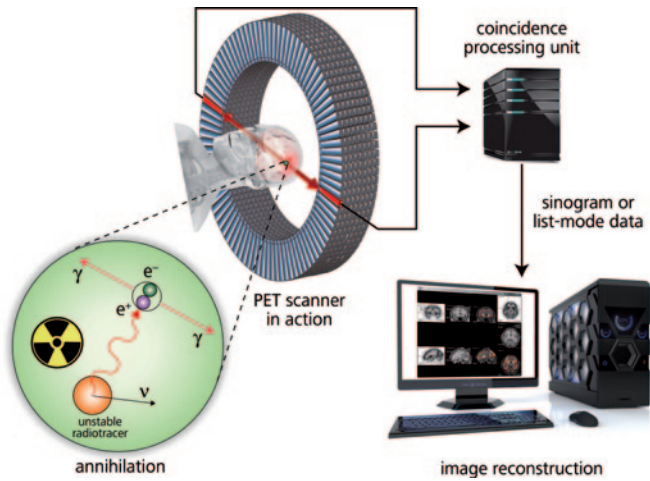


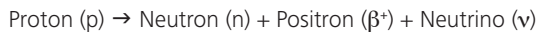
Bild oben:
Prinzip der Positronen-Emissions-Tomographie (PET)

Bild unten:
Dr. Jesús Chesa Jiménez, Leiter der Qualitätskontrollabteilung von ITP, bedient das Metrohm-Ionenchromatographiesystem.

Grundlagen der Positronen-Emissions-Tomographie

Radiopharmaka sind radioaktive Arzneimittel, welche in der Nuklearmedizin zur Diagnose, Behandlung oder Prävention von Krankheiten eingesetzt werden. Sie enthalten ein radioaktives Isotop, ein sogenanntes Radionuklid, das an ein biologisch inertes oder aktives Molekül gebunden ist.

Radionuklide sind instabile Isotope, die überschüssige Neutronen oder Protonen enthalten und deshalb radioaktiv zerfallen, was zur Emission von Gammastrahlen oder von subatomaren Partikeln führt. Bei protonenreichen Nukliden wandelt sich ein Proton durch Beta-Plus-Zerfall in ein Neutron um, wobei auch ein Neutrino (ν) und ein Positron (das Antiteilchen des Elektrons oder ein Elektron mit einer positiven Ladung; auch als β^+ -Teilchen bezeichnet) emittiert werden:



Das Positron durchdringt das umgebende Medium, verliert dabei seine kinetische Energie und vereinigt sich dann mit einem Elektron. Dieses Aufeinandertreffen führt zur Vernichtung (Annihilation) sowohl des Positrons als auch des Elektrons und der direkten Umwandlung derer Massen in Energie. Es werden zwei Photonen (Gammastrahlen) mit einer Energie von jeweils 0.511 MeV in entgegengesetzter Richtung emittiert (die sog. Annihilationsstrahlung):

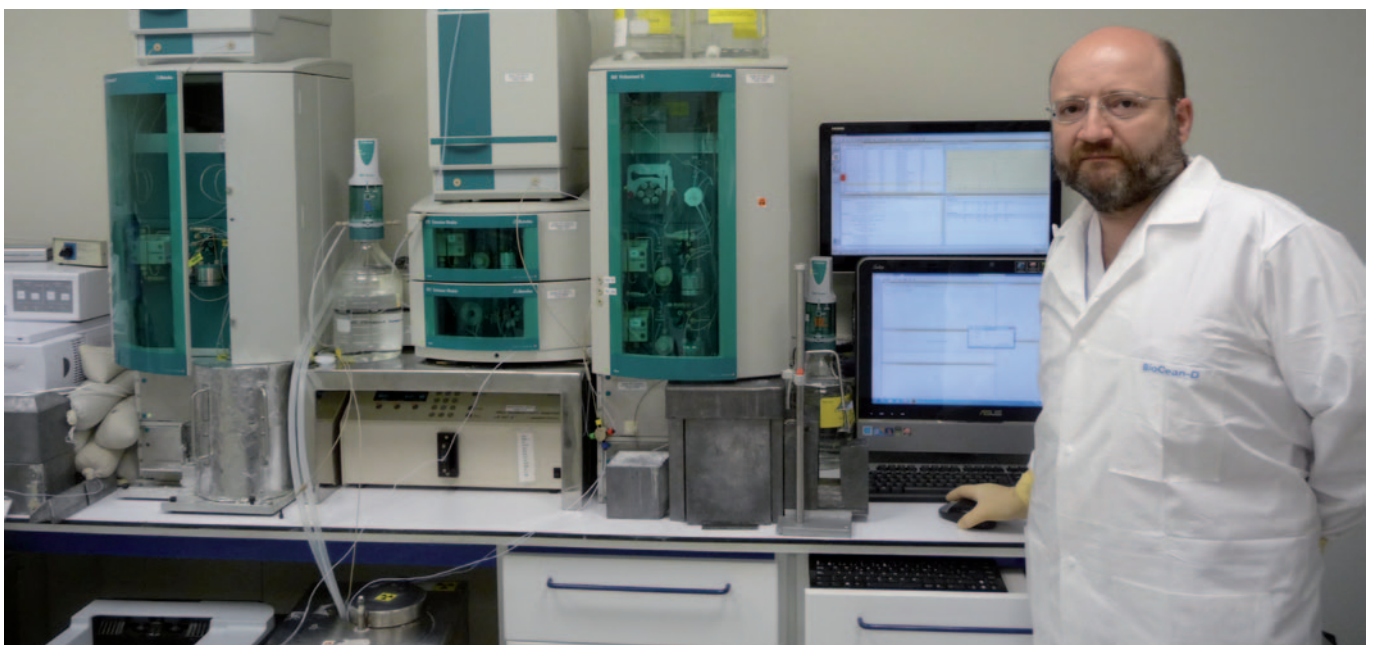


Je zwei solcher Photonen lassen sich mittels hochentwickelter Scanner mithilfe der sensitiven Koinzidenzdetektion erfassen. Aus den gesammelten Daten können dann dreidimensionale Bilder von Gewebestrukturen errechnet werden. Die Positronen emittierenden Radionuklide werden auch als Tracer bezeichnet. Die in der Radiopharmazie in Zyklotronen hergestellten und am häufigsten verwendeten, kurzlebigen Radionuklide sind ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O und ^{18}F . Ihre jeweilige Halbwertszeit beträgt 20.38, 9.96, 2.03 bzw. 109.7 min.

Verwendung von Radiopharmaka

Bevor sich Radionuklide für die Diagnostik verwenden lassen, werden sie entweder in ein biologisch inertes Molekül (z. B. die in den Blutstrom injizierten Tracer [^{15}O]-Wasser oder [^{15}O]-Butanol) oder aber in ein biologisch aktives Molekül eingebaut, das von dem zu untersuchenden Organ absorbiert wird.

Sobald sich das Radiopharmakon in dem zu untersuchenden Organ angereichert hat, wird der Patient in den PET-Scanner geschoben und positioniert. Die vom angereicherten Radiopharmakon emittierten Photonen werden mit dem Scanner detektiert. Aus den gesammelten Daten berechnet ein Computer mit hochentwickelter Software dreidimensionale Bilder der Photonenquelle, also der räumlichen Verteilung des Radiopharmakons im Körper. Auf diese Weise können physiologische, biochemische und pharmakologische Prozesse auf molekularer Ebene untersucht werden. Krebs, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und sogar neurologische Störungen lassen sich so erkennen – auch lange bevor Symptome auftreten.



Chromatographiebedingungen für die Qualitätskontrolle von [¹⁸F]Fluorid, [¹⁸F]FDG und [¹⁸F]Fluorocholin.

	[¹⁸ F]Fluorid	[¹⁸ F]FDG	[¹⁸ F]Fluorocholin
Säule	Metrohm A Supp 5 - 150/4.0	Metrosep Carb 1 - 150/4.0	Metrosep C 4 - 150/4.0
Säulentemperatur	45 °C	25 °C	40 °C
Probenvolumen	10 µL	10 µL	10 µL
Eluent	3.2 mmol/l Natriumcarbonat 3.2 mmol/l Natriumhydrogencarbonat	0.1 mol/l Natriumhydroxid	1.7 mmol/l Salpetersäure 0.7 mmol/l Dipicolinsäure
Flussrate	0.7 mL/min	1.0 mL/min	1.5 mL/min
Detektion	Leitfähigkeitsdetektion nach chemischer Suppression	Gepulste amperometrische Detektion (PAD)	Leitfähigkeitsdetektion
Analysezeit	8 min	18 min	14 min

Herstellung von Radiopharmaka für die Positronen-Emissions-Tomographie

Die in der PET bevorzugt eingesetzten Radionuklide ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O und ¹⁸F werden in einem Zyklotron hergestellt: Ein präpariertes Target (z. B. Wasser) wird mit einem hochenergetischen Strahl beschleunigter, geladener Partikel beschossen. Die erzeugten Radionuklide werden anschliessend isoliert und in einer Radiosynthese in ein anderes Molekül eingebaut, wodurch man das Radiopharmakon erhält.

Da ein Fluoratom ähnlich gross wie ein Wasserstoffatom ist, verhält es sich wie ein «Pseudo-Wasserstoffatom» und eignet sich hervorragend dazu, Wasserstoffatome in organischen Molekülen zu ersetzen. ¹⁸F ist somit eines der wichtigsten Radionuklide in der diagnostischen Nuklearmedizin. ¹⁸F wird durch Protonenbeschuss eines ¹⁸O-angereicherten Wasser-Targets hergestellt. Bei dieser Kernreaktion reagieren hochenergetische Protonen mit dem ¹⁸O-Atomkern unter Bildung eines Neutrons und ¹⁸F gemäss ¹⁸O(p,n)¹⁸F. Das dabei gebildete Radionuklid ¹⁸F ist ein Positronenemitter und zerfällt unter Photonenemission mit einer Halbwertszeit von 109.7 min in das stabile Isotop ¹⁸O. Nach Abtrennen des ¹⁸F vom ¹⁸O-Wasser, wird das ¹⁸F schnellstmöglich in einer Radiosynthese in die gewünschte chemische Verbindung integriert. Die so erhaltenen [¹⁸F]-Radiotracer werden aufgereinigt und auf ihre Reinheit überprüft.

[¹⁸F]Fluorodeoxyglucose

[¹⁸F]Fluorodeoxyglucose, üblicherweise abgekürzt als [¹⁸F]FDG oder einfach FDG, ist ein Glucoseanalogon, bei dem die Hydroxylgruppe in der 2'-Position des Glucosemoleküls durch [¹⁸F]Fluor ersetzt ist. Mit diesem Molekül lassen sich Informationen zur Verwendung und zum Metabolismus von Glucose im Herzen, in der Lunge und im Gehirn gewinnen. Ausserdem wird es in der Onkologie eingesetzt, um verschiedene Tumortypen anhand ihres abnormalen Glucosestoffwechsels zu charakterisieren. Nach der Verabreichung an den Patienten wird das [¹⁸F]FDG mithilfe derselben Transportmechanismen in die Zellen aufgenommen wie «normale» Glucose.

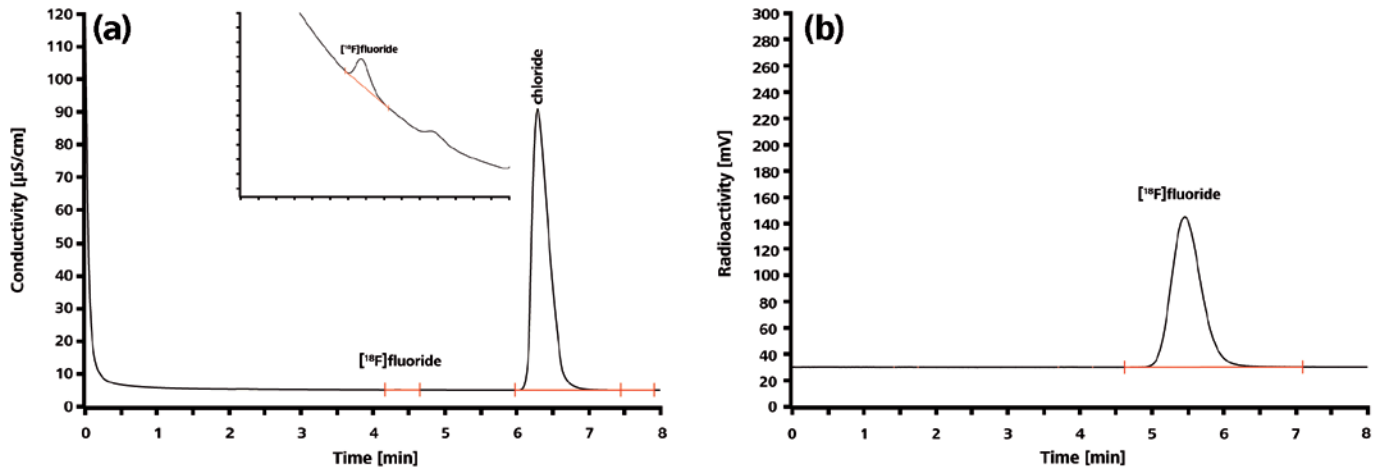
Im Unterschied zu dieser wird [¹⁸F]FDG jedoch nicht metabolisiert, bleibt daher in den Zellen und ermöglicht so die Bildgebung mittels PET. Nicht zuletzt aufgrund seiner verbreiteten Anwendung in der Diagnostik, der Vielzahl verfügbarer Markierungsverfahren und seiner günstigen Halbwertszeit von etwa zwei Stunden, die den Transport an Einrichtungen ohne eigenes Zyklotron erlaubt, ist [¹⁸F]FDG das bei der PET am häufigsten eingesetzte organische Radiopharmakon.

[¹⁸F]Fluorocholin

In Zellen dient Cholin als Ausgangssubstanz bei der Biosynthese von Phospholipiden. Letztere sind wichtige Bestandteile der Zellmembran. Da Tumorzellen einen gesteigerten Metabolismus von Zellmembrankomponenten und eine erhöhte Aufnahme von Cholin zeigen, sind radioaktiv markierte Cholin-Tracer wertvolle diagnostische Hilfsmittel bei der Krebserkennung. [¹⁸F]Fluorocholin ist ein erst vor Kurzem entwickelter PET-Radiotracer, der die Untersuchung des Cholin-Metabolismus in vivo erlaubt. Er basiert auf dem zum Tumornachweis verwendeten Radiotracer [¹¹C]Cholin. Der Grund für die Entwicklung des ¹⁸F-markierten Derivats war dessen deutlich längere Halbwertszeit, die den Transport dieses Tracers an PET-Einrichtungen ohne eigenes Zyklotron erlaubt.

Ionenchromatographische Analyse von Radiopharmaka mit Metrohm-Geräten

Derzeit sind zwei verschiedene Ionenchromatographiesysteme von Metrohm in den Qualitätskontrolllabors von ITP in Madrid installiert. Beim ersten handelt es sich um ein Anfang 2010 installiertes, anwenderspezifisch angepasstes Chromatographiesystem. Es wurde für die Qualitätskontrolle des Radionuklids [¹⁸F]Fluorid und der aus dieser Ausgangssubstanz hergestellten Radiotracer [¹⁸F]FDG und [¹⁸F]Fluorocholin konzipiert. Kürzlich wurde ein zweites Ionenchromatographiesystem installiert, um mit dem wachsenden Aufkommen an [¹⁸F]FDG-Proben Schritt zu halten.



(a) Leitfähigkeits- und (b) Radioaktivitätschromatogramm von $[^{18}\text{F}]$ Fluorid. Bei der nucleophilen Fluorierung werden Tracermengen (d. h. sehr geringe Mengen) von $[^{18}\text{F}]$ Fluoridionen eingesetzt, um Kohlenstoff-Fluor-Bindungen zu bilden. Die IC-Software rechnet die Einheiten der Strahlung, Zählimpulse pro Sekunde (counts per second, cps), direkt in mV um. Die Chromatographiebedingungen sind in der Tabelle aufgeführt.

Neben Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der analytischen Ergebnisse ist auch ein hoher Durchsatz essentiell. Die Qualitätskontrolle bei allen drei Produktionslinien wird mithilfe eines Mehrkanal-Radio-Ionenchromatographen durchgeführt. Die Analyseeinheit bietet die folgenden Vorteile:

Flexibilität des Systems

Das Ionenchromatographiesystem bei ITP vereint drei Qualitätskontrollsysteme für PET-Pharmaka in einem Instrument. Der Fluss kann mit nur einem Injektionssystem automatisch in die drei Kanäle geleitet werden. Durch die Auswahl zwischen einer Vielzahl verschiedener Säulen, mobiler Phasen und Detektoren können $[^{18}\text{F}]$ Fluorid, $[^{18}\text{F}]$ FDG, und $[^{18}\text{F}]$ Fluorocholin getrennt nachgewiesen werden. Die gesamte Systemsteuerung und Datenerfassung erfolgt durch die MagIC Net™-Software.

Anwendersicherheit

Die automatische Injektion von Proben mit der patentierten Dosino-Technologie von Metrohm erlaubt die Handhabung sehr geringer Probenvolumina mit beeindruckender Genauigkeit. Mithilfe der MagIC Net™-Software lassen sich sowohl das Liquid-Handling als auch das Dosieren und Spülen vollständig automatisieren, sodass keinerlei Verschleppung auftritt. Das modulare Design des Metrohm-Ionenchromatographen bewährt sich auch bei der Installation der erforderlichen Bleiabschirmung zum Schutz der Anwender. Das Injektionsventil befindet sich innerhalb eines massgeschneiderten, 5 cm dicken Bleigehäuses, während die von den Radiotraceren auf den Trennsäulen emittierte Strahlung durch eine ausreichend starke Bleiabschirmung auf ein sicheres Niveau reduziert wird. Ausserdem wird der Anwender durch einen Probenhalter aus Blei vor Gammastrahlen geschützt.

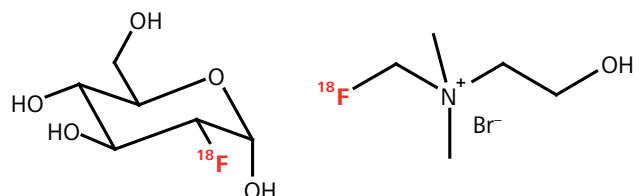
Chemische Struktur zweier PET-Radiopharmaka. (a) Bei $[^{18}\text{F}]$ FDG ist die Hydroxylgruppe in der 2'-Position von Glucose durch ^{18}F ersetzt. (b) Bei $[^{18}\text{F}]$ Fluorocholin ist eine $[^{18}\text{F}]$ Fluoralkylgruppe an das Stickstoffatom von N,N-Dimethylaminoethanol (DMAE) angehängt.

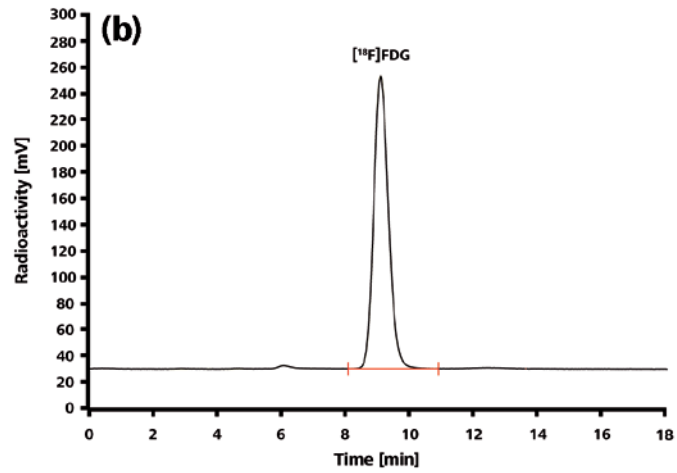
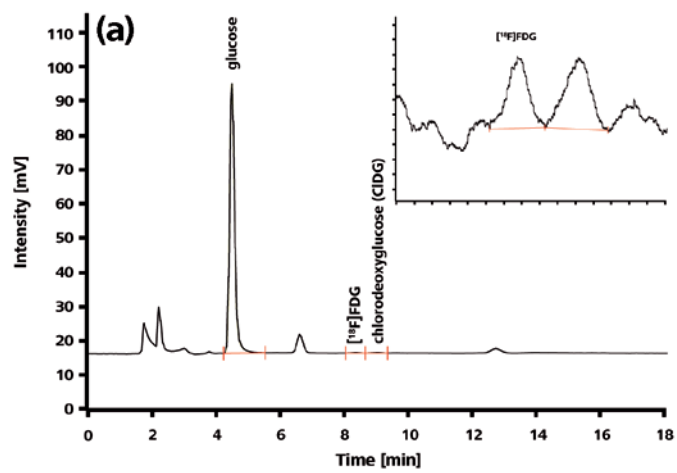
Umfassende Qualitätskontrollen

Die besonderen Eigenschaften der Radiopharmaka erfordern spezielle Qualitätssicherungsverfahren, die in zahlreichen Arzneibüchern beschrieben sind. Die Qualitätskontrolle umfasst das Überprüfen der chemischen und radiochemischen Reinheit, bevor der Radiotracer dem Patienten verabreicht werden darf. Radiochemische Reinheit eines Radiotracers – das Verhältnis zwischen gebundenem (z. B. $[^{18}\text{F}]$ FDG) und ungebundenem Radionuklid (z. B. $[^{18}\text{F}]$ Fluorid) – gewährleistet die Bildqualität des PET-Scans und schützt den Patienten vor unnötiger Strahlenexposition.

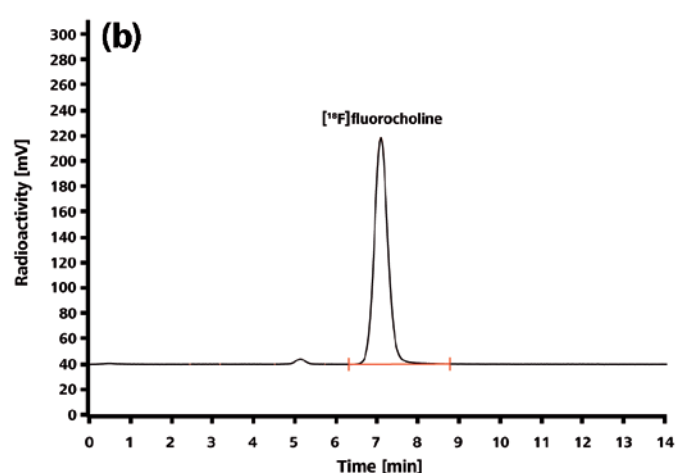
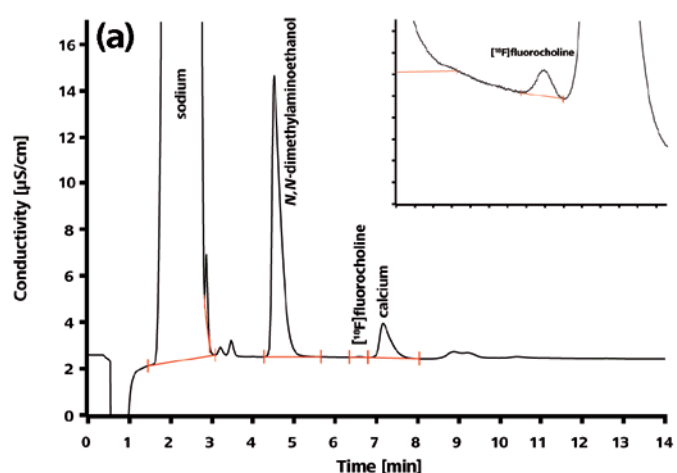
Wie auch bei der Herstellung von anderen Pharmazeutika ist es unabdingbar, die erforderliche chemische Reinheit des synthetisierten Radiopharmakons zu überprüfen und seine Konzentration zu ermitteln, die meist im nanomolaren Bereich liegt. Dabei müssen auch überschüssige Ausgangssubstanzen und von der Radiosynthese stammende Nebenprodukte quantifiziert werden. Das Chromatogramm für das Radiopharmakon $[^{18}\text{F}]$ FDG zeigt die Peaks der im Überschuss eingesetzten Ausgangssubstanz Glucose, das trägerfreie $[^{18}\text{F}]$ FDG und Chlordeoxyglucose als Verunreinigung. Die Analyse dauert weniger als 10 Minuten.

Das Chromatogramm für das Radiopharmakon $[^{18}\text{F}]$ Fluorocholin zeigt, dass neben nanomolaren Mengen des Radiotracers $[^{18}\text{F}]$ Fluorocholin beträchtliche Mengen der Ausgangssubstanz N,N-Dimethylaminoethanol und Spuren von Calciumverunreinigungen in der Reaktionsmischung enthalten sind.





Chromatogramme für das Radiopharmakon $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$. (a) Das IC-PAD-Chromatogramm mit überschüssiger Ausgangssubstanz Glucose, dem trägerfreien $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ und der Chlordeoxyglucose-Verunreinigung. (b) Radioaktivitätschromatogramm von $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$. Die IC-Software rechnet die Einheiten der Strahlung, Zählimpulse pro Sekunde (cps), in mV um. Die Chromatographiebedingungen sind in der Tabelle aufgeführt.



Chromatogramme für das Radiopharmakon $[^{18}\text{F}]\text{Fluorocholin}$. (a) Leitfähigkeits- und (b) Radioaktivitätschromatogramm der $[^{18}\text{F}]\text{Fluorocholin}$ -Reaktionsmischung. $[^{18}\text{F}]\text{Fluorocholin}$ wird durch ^{18}F -Fluoralkylierung von N,N-Dimethylaminoethanol (DMAE) mit gasförmigem ^{18}F -Bromfluormethan synthetisiert. Bei dieser Markierungsreaktion bleiben grosse Mengen an nicht umgesetztem DMAE zurück. Weitere potenzielle Nebenprodukte wie Bromcholin können ebenfalls bestimmt werden. Die IC-Software rechnet die Einheiten der Strahlung, Zählimpulse pro Sekunde (cps), in mV um. Die Chromatographiebedingungen sind in der Tabelle aufgeführt.

Garantiert kurze Analysezeiten

Da die meisten Positronen emittierenden Radiopharmaka kurze Halbwertszeiten haben, ist es überaus wichtig, die für die Qualitätskontrolle erforderliche Zeit zu reduzieren. Dabei garantieren optimal aufeinander abgestimmte und computergesteuerte Nachweis- und Spülsequenzen für Detektorwege und Probeninjektionskreislauf schnelle und genaue Analysen.

Schlussfolgerungen

Metrohms hochflexibles Ionenchromatographiesystem wird den hohen Anforderungen der radiopharmazeutischen Industrie und den Vorschriften der Arzneibücher gerecht. Mit einem einzigen Mehrkanal-Radio-Ionenchromatographen kann die Qualitätskontrolle unterschiedlicher Produktionslinien durchgeführt werden. Neben höchster Qualität bietet der Ionenchromatograph von Metrohm dem Anwender Sicherheit, niedrige Wartungskosten und ausserordentliche Robustheit.

Danksagung

Die Autoren danken Dr. Jesús Chesa Jiménez von ITP und der IC-Abteilung von Gomensoro für die freundliche Unterstützung und die fruchtbaren Diskussionen während der Verfassung dieses Artikels.