

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické a jaderné chemie

**Studium přípravy a vlastností vybraných sloučenin
lutecia 177 perspektivních pro použití v nukleární
medicíně**

Diplomová práce

Milan Kučera

Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Ladislav Lešetický CSc.
Vypracoval: Bc. Milan Kučera
Praha 2008

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Studium přípravy a vlastností vybraných sloučenin lutecia 177 perspektivních pro použití v nukleární medicíně“ jsem vypracoval samostatně. Veškerou použitou literaturu a podkladové materiály uvádím v přiloženém seznamu literatury



V Praze dne 15.8. 2006

Milan Kučera

Poděkování:

Děkuji školiteli Doc. RNDr. L. Lešetickému, CSc, školiteli - konzultantovi Doc. Ing. F. Melicharovi DrSc, Ing. Martinu Kropáčkovi PhD a všem ostatním pracovníkům laboratoře radiofarmak UJF AVČR v Řeži za cenné připomínky a všeobecnou podporu při vypracování mé diplomové práce.

OBSAH

1. ÚVOD.....	5
2. TEORETICKÁ ČÁST.....	6
2.1. Co jsou radiofarmaka.....	6
2.2. Značené boromakroagregáty pro účely radiační synvektomie.....	7
2.3. Paliativní látky.....	9
2.4. Výroba radionuklidů pro nukleární medicínu.....	14
3. PLÁN EXPERIMENTŮ.....	16
3.1. Příprava radionuklidu lutecia 177.....	16
3.1.1. Volba terče.....	17
3.1.2. Oxid lutecity.....	17
3.1.3. Dusičnany lutecité.....	18
3.1.4. Chlorid lutecity a jeho hydratované formy.....	19
3.1.5. Volba cílové aktivity.....	19
3.2. Syntéza a studium komplexů lutecia	25
3.2.1. Chromatografický systém lutecium-EDTMP.....	27
3.2.2. Chromatografický systém lutecium-DTPA.....	28
3.2.3. Chromatografický systém lutecium-DOTA.....	29
3.3. Analýza rozdělení velikosti částic.....	31
3.4. Analýza stability in vitro.....	32
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	33
4.1. Způsob aktivace v jaderném reaktoru.....	33
4.1.1. Provedení vlastní aktivace.....	34
4.1.2. Příprava zásobního roztoku dusičnanu lutecitného.....	34
4.1.3. Měření celkové aktivity.....	35
4.1.4. Kontrola spektrální radionuklidové čistoty.....	35
4.1.5. Kontrola radionuklidové čistoty podle rozpadové křivky.....	37
4.2. Metoda chromatografie na tenké vrstvě.....	37

4.3. Měření aktivity lutecia ^{177}Lu v chromatogramech.....	38
4.4. Vlastní syntéza komplexů.....	38
4.5. Nalezení optimálních chromatografických systémů.....	39
4.3.1. Chromatografický systém lutecium-DTPA.....	41
4.3.2. Chromatografický systém lutecium-DOTA.....	42
4.3.3. Chromatografický systém lutecium-EDTMP.....	43
4.6. Vliv pH na výtěžek komplexace.....	45
4.4.1. Chromatografický systém lutecium-DTPA.....	46
4.4.2. Chromatografický systém lutecium-DOTA.....	47
4.4.3. Chromatografický systém lutecium-EDTMP.....	49
4.7. Vliv koncentrace ligandu.....	50
4.5.1. Chromatografický systém lutecium-DTPA.....	51
4.5.2. Chromatografický systém lutecium-DOTA.....	52
4.5.3. Chromatografický systém lutecium-EDTMP.....	53
4.8. Vliv reakčního času na výtěžek komplexace.....	54
4.6.1. Chromatografický systém lutecium-DTPA.....	56
4.6.2. Chromatografický systém lutecium-DOTA.....	57
4.6.3. Chromatografický systém lutecium-EDTMP.....	57
5.1. Příprava boromakroagregátů značených luteciem ^{177}Lu.....	59
5.2. Analýza distribuce velikosti částic.....	60
5.3. Analýza stability in vitro.....	61
6. ZÁVĚR.....	65
7. BEZPEČNOST PRÁCE A RADIOLOGICKÁ DATA.....	66
8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	68

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Co jsou radiofarmaka

Radiofarmaka jsou preparáty obsahující biologicky aktivní látky, jejichž účinnou složkou je radionuklid, který je zdrojem ionizujícího záření. Používají se k diagnostice i terapii a poskytují informace o kinetice, orgánové distribuci, metabolizmu a vylučování aplikovaných sloučenin, případně slouží k destrukci nádorů, jejich metastáz a jiných novotvarů v lidském těle. Přesto více než 95 % radiofarmak v nukleární medicíně slouží pro diagnostické účely. Radiofarmaka obvykle nemají žádný farmakologický účinek, protože jsou užívaná pouze ve stopových množstvích. Nevykazují žádný vztah mezi dávkou a účinkem, a tím se liší od běžných léků. Musí být sterilní a nepyrogenní a musí projít všechna kontrolní měření a testy jako běžné léky, aby mohly být bezpečně podány pacientům. Radiofarmakum může být buď radioaktivní prvek, značená sloučenina či komplexní forma vhodného radionuklidu (farmakum). Při návrhu radiofarmaka je nejprve vybrána vhodná molekula na základě její farmakokinetiky. Musí se buď přednostně hromadit v daném orgánu nebo se musí účastnit příslušné fyziologické funkce. Poté je na tuto molekulu navázán vhodný radionuklid. Po podání radiofarmaka člověku, radioaktivní záření z něho emitované je detegováno detektorem vně pacientova těla. Tímto způsobem je možno hodnotit funkčně morfologickou strukturu nebo fyziologickou funkci daného orgánu nebo systému. Radiofarmakum musí být bezpečné, nesmí být toxické, čili musí mít vhodný biologický i fyzikální poločas, aby svou přítomností zbytečně nezatěžovalo pacientův organismus, radioaktivní záření musí být snadno detegovatelné soudobými zobrazovacími systémy a absorbovaná dávka záření musí být co nejmenší. O použitelnosti určité látky jako radiofarmaka rozhodují následující vlastnosti: jaderné charakteristiky radionuklidu, chemická, případně fyzikální forma, toxicita, radionuklidová a radiochemická čistota, měrná aktivita, a stabilita. Radiofarmakum je z těla vylučováno močí, stolicí, potem a dalšími mechanismy. Ideální radiofarmakum by mělo splňovat některé vlastnosti. Mělo by být snadno dostupné, mělo by mít krátký efektivní poločas, nemělo by mít žádné korpuskulární záření pro diagnostické účely a mělo by mít korpuskulární záření vhodného dosahu pro terapeutické účely, poměr jeho akumulace v příslušném orgánu a akumulace v okolí by měl být co největší. Radiofarmaka se akumulují v různých

orgánech a tkáních prostřednictvím několika mechanismů. Nejdůležitější je metabolická aktivita tkání, pasivní difuse a fagocytosa, např. makroagregáty lutecia a holmia v synovektu (kloubní výstélce), blokáda kapilár (například různá radiofarmaka ve suspenzní formě při léčbě jaterních nádorů a metastáz), buněčná sekvestrace, vazba na receptory, reakce antigenu s protilátkou a některé další.

U radiofarmak musí být nezbytně zajištěna analytická kontrola preparátu, která zahrnuje stanovení radiochemické, radionuklidické a chemické čistoty, u suspenzních forem také stanovení velikosti částic, dále pak mikrobiologická nezávadnost a apyrogenita. Pro stanovení radiochemické čistoty se ve většině případů používá chromatografie na tenké vrstvě s radiometrickou detekcí, radionuklidová čistota se ověruje měřením spekter gama záření. Pro určení fyzikálně-chemických konstant se využívá potenciometrie a elektromigrační metody, měření velikosti částic se provádí zpravidla granulometricky.

2.2. Značené boromakroagregáty pro účely radiační synvektomie

Revmatoidní artritida patří mezi zánětlivé, v dnešní době ne právě výjimečné onemocnění kloubů postihující častěji ženy než muže. Projevuje se bolestmi kloubů se silným otokem, případně zčervenáním s nebezpečím pozdějšího vzniku deformit, které mohou vést až k případnému znehynění kloubu (ankylóza). Příčinou bývá zpravidla zanícená kloubní blána (tzv. synovium), která je součástí vnitřní výstelky kloubního pouzdra a která produkuje kloubní (synoviální) tekutinu, zajišťující správnou funkci kloubu.

Cílem léčby je pak odstranění zaníceného synovia. Toho lze dosáhnout buď chirurgicky- tento zákrok se nazývá synvektomie a spočívá v klasickém operativním otevření kloubního pouzdra a mechanickém odstranění zaníceného synovia. Určitou alternativou je metoda využívající artroskopu (tzv.artroskopická synvektoie). Tato metoda je poněkud šetrnější, ale většinou poněkud méně účinná, vzhledem ke kompletnosti odstranění postiženého synovia. Její výhodou je především podstatně kratší doba hospitalizace pacienta po zákroku. V některých případech může takovýto zákrok vést až ke ztrátě pohyblivosti kloubu.

Radiační synovektomie se naproti tomu jeví jako lákavá alternativa, spočívající v aplikaci radionuklidu ve formě suspenze částic vhodné velikosti pomocí speciální injekce přímo do dutiny kloubní. V ní jsou částice v poměrně krátké době fagocytovány makrofágy synovia a dochází k rychlé distribuci po povrchu synovia. Synovium je pak zničeno v důsledku radiace. Hlavní výhodou této metody je to, že se nejedná o invazivní metodu, po které je nutná děletrvající hospitalizace s následnou dlouhodobou rehabilitací a pacient se tak může vrátit ke své běžné činnosti již několik dnů po zákroku.

Základním předpokladem úspěšného provedení radiační synvektomie je přísně intraartikulární aplikace, při které nedochází k úniku léčiva do mimokloubních prostor a k možnému poškození chrupavky, šlach či nekróze kůže. Hlavním problémem spojeným s intraartikuární radioterapií je tedy únik radiace do struktur mimo cílovou dutinu, a to především lymfatickou drenáží. Největší podíl uniklých radioaktivních částic je v těchto případech zachycen mimo dutinu kloubní, zvláště v lymfatických uzlinách, játrech, slezině a v myokardu. Je tedy nutné vybrat takový vhodný nuklid v takové formě, která zajišťuje maximální retenci v kloubním pouzdře. Základními vlastnostmi jsou vysoká vazebná afinita nosiče k danému radionuklidu a přesně definovaná velikost částic zajištěná vhodnou přípravou preparátu. Biologicky poločas částic uvnitř kloubního pouzdra má být delší než fyzikální poločas daného nuklidu, nosné částice by měly být pokud možno biologicky odbouratelné.

Zatím byly připraveny a v klinické praxi vyzkoušeny boromakroagregáty značené izotopem holmia ^{166}Ho ($^{166}\text{Ho-B-MA}$) (13) ozařováním předem připravených boromakroagregátů obsahujících stabilní nuklid ^{165}Ho . Tyto makroagregáty byly připraveny reakcí ve vodě rozpustěného dusičnanu holmitého s roztokem borohydridu sodného v 0,2 M NaOH.

Bylo zjištěno, že použití menšího než 20tinásobného nadbytku borohydridu vzhledem k dusičnanu holmitému vede ke vzniku nestabilních částic, které mají tendenci ke zpětnému rozpouštění.

Výsledky studie *in vivo* stability, získané na králících jako na pokusných zvířatech prokázaly vysokou retenci ^{166}Ho v místě aplikace. Po uplynutí 7 dnů od počátku aplikace $^{166}\text{Ho-B-MA}$ byla retence v kolením kloubu vyšší než 99,2%. Zároveň nebyly zjištěny žádné toxické účinky 1 měsíc po aplikaci u králíků, kteří obdrželi injekční dávku 20-30krát převyšující typickou klinickou dávku, všechny údaje čerpány z (13).

Díky těmto nanejvýš slibným vlastnostem boromakroagregátů značených izotopem holmia vynikla myšlenka připravit zcela analogicky boromakroagregáty značené radioaktivním izotopem luteciaia ^{177}Lu ($^{177}\text{Lu-B-MA}$) a prověřit některé jeho vlastnosti

2.3. Paliativní látky:

Další relativně novou a perspektivní aplikací radiofarmak se v poslední době ukázalo použití některých radioizotopů aplikovaných ve vhodné formě k tlumení chronické bolesti zvláště u pacientů postiženými vážnými degenerativními procesy ve skeletu, které jsou jen obtížně zvládnutelné běžnými analgetiky. Obzvláště výhodnou se tato aplikace jeví při bolestech způsobených metastatickým rozsevem různého původu, při kterém je bolest způsobována rychlým růstem metastáz uvnitř kostní tkáně. Je třeba zdůraznit, že se v případě této aplikace nejedná o typ léčby, při které by byla zamýšlena destrukce vlastních metastáz – vlastních původců bolesti, ale o léčbu čistě symptomatickou, kdy k pacientově úlevě dochází jiným, dosud ne příliš známým mechanizmem, patrně přímo interakcí záření s nervovými čidly bolesti. Protože se jedná se jedná o problematiku, která je jak používanými komplexotvornými činidly (EDTMP), tak výhledově použitím radioaktivního izotopu lutecia v úzké souvislosti se tématem této práce, rád bych se o ní zmínil trochu podrobněji.

Myšlenka využití systémové radionuklidové terapie u pacientů trpících bolestí způsobenou mnohačetnými metastázami do kostí není nová, neboť se datuje do období druhé světové války. Jistého praktického významu dosáhla však až v 60.a 70.letech minulého století. Sice již záhy po objevu rentgenového záření (W.C.Roentgen v r.1895) byly zjištěny proti-bolestivé účinky těchto paprsků a první zprávy o analgetickém účinku záření byly zveřejněny v roce 1897, (mimo jiné také o úspěšném odstranění bolesti u kloubního revmatizmu) žádný pokus o symptomatickou terapii bolesti nebyl publikován. Širší uplatnění a trvalé místo v léčbě onkologické bolesti nalezla tato metoda až v 2.polovině 80.let ve spojitosti s přípravou nových vhodných izotopů a vzhledem k pozitivním zkušenostem s řadou z nich. Z mnoha látek, o kterých bylo v souvislosti s léčbou systémové bolesti podmíněném metastatickým postižením skeletu uvažováno jako o potencionálních radioterapeuticích se nevíce osvědčily a v klinické praxi

v uvedené indikaci se uplatňují čtyři: fosfor ^{32}P , stroncium ^{89}Sr , samarium ^{153}Sm a rhenium ^{186}Re .

Fosfor ^{32}P představuje radionuklid již historicky překonaný jak z důvodu výrazné doprovodné toxicity (výrazná myelosuprese čili útlum kostní dřeně) tak hlavně pro slabší analgetický účinek. Jeho první terapeutická aplikace se uskutečnila již v roce 1941 (15), většina klinických studií však byla provedena až v 60. letech. Ke stimulaci osteoklastické aktivity byl před vlastní aplikací radiofosforu používán parathormon, nebo androgenní látky, pro lepší zabudování radiofosforu do kostní tkáně. Fosfor ^{32}P byl podáván perorálně nebo intravenózně v opakovaných dávkách 40-80 MBq do celkové dávky 400-800 MBq (12,16).

Dalším radionuklidem užívaným ve světě a v poslední době i u nás je nejrozšířenější izotop stroncia ^{89}Sr . První zpráva o jeho experimentálním užití v indikaci tlumení bolesti při metastázách ve skeletu pochází z roku 1942, ale první rozsáhlější klinická studie byla zveřejněna až v roce 1976 (17). V dalším sledu pak byly publikovány základní údaje o jeho farmakokinetických vlastnostech a dozimetrii, např. (18). Stroncium a podobně i další izotopy v této aplikaci se chovají jako analogy vápníku s charakteristickým postavením v metabolizmu kostí, tj. v průběhu relativně krátkého času dosahují významné koncentrace ve skeletu s jasným upřednostněním míst se zvýšenou metabolickou aktivitou.

V uvedené indikaci se používá chlorid stroncia ^{89}Sr pod názvem Metastron (výrobce Amersham, GB). Jeho aktivita se při pomalé intravenózní aplikaci pohybuje v rozmezí 1,5-2,0 MBq/kg hmotnosti pacienta, obvykle v celkové dávce 150 MBq. Opakování podání je vzhledem k fyzikálnímu poločasu možné nejdříve za 3 měsíce, ale je možné častěji i později dle aktuálního klinického stavu, objeví li se znova bolesti, nebo dojde k jejich zvýraznění.(19,20).

Maximální využití nachází stroncium ^{89}Sr u extenzivního metastatického rozsevu nádoru do skeletu. V klinické praxi je to nejčastěji generalizovaný karcinom prostaty, karcinom prsu a bronchogenní karcinom. Po aplikaci ^{89}Sr dochází ve výrazné většině případů (statisticky v 70-79 %) nejen k rychlému snížení intenzity bolestí, či k různě dlouhé remisi, ale i k rozpoznatelným změnám v scintigrafickém obrazu: snížení akumulace radiofarmaka v postižených oblastech až ke zcela normálnímu zobrazení dříve patologických míst. Hematologická toxicita, doprovázející léčbu stronciem ^{89}Sr , je

hodnocena jako minimální. Nebyl zde pozorován u radiofosforu často se vyskytující útlum krvetvorby. Deprese bílé nebo červené krevní složky je jen přechodná, zpravidla se upravuje do čtyř týdnů. S její poněkud intenzivnější manifestací se někdy setkáváme u pacientů s předchozí intenzivní cytostatickou terapií (16,20).

Rhenium ^{186}Re v podobě organického komplexu HEDP (hydroxyethyliden bisfosfonát, etydronat) je nyní k dispozici i jako v ČR registrovaný přípravek Osteopal (Mallinckrodt, Nizozemí/USA), i když jeho dostupnost je vzhledem ke krátkému poločasu problematická a díky závislosti na letecké přepravě náročná na organizaci. Klinický analgetický účinek je pozorován v 80-90 % případů při jednorázové intravenózní aplikaci aktivity v rozmezí 1,2-1,8 GBq. Opětovný návrat bolestivých kostních symptomů je popisován u cca 50 % léčených, v průměru za 5-7 týdnů od aplikace (16).

Samarium ^{153}Sm v podobě komplexu s EDTMP (ethylendiamintetramethylen fosfonát) vykazuje výraznou preferenční akumulaci v metastázách skeletu, avšak vzhledem k velmi krátkému poločasu rozpadu ^{153}Sm (46,3 h) je jeho klinické uplatnění přímo závislé na možnostech lokální výroby, dovoz na větší vzdálenosti není reálný. Aplikace se provádí opět přísně intravenózně a dávka udávaná aktivitou radiofarmaka se pohybuje v rozmezí 20-40 Mbq/kg hmotnosti. Dobrý analgetický účinek se dostavuje v 65-89 % případů s maximální délkou trvání 35 týdnů. Opakované podávání samaria ^{153}Sm je možné po asi 4 týdnech, avšak dochází ke kumulaci rizika myelosuprese (21,22).

Vzhledem k velmi pozitivním zkušenostem s komplexem tohoto lanthanoidu se jevilo perspektivním otestovat obdobné komplexy i u dalšího prvku z této skupiny – lutecia, konkrétně jeho izotopu ^{177}Lu .

Radionuklidы pro paliativní terapii kostních metastáz jsou shrnutы v tab. 1.

Charakteristika radioizotopů používaných v současnosti v systémové terapii bolesti podmíněné metastatickým postižením skeletu			
Radionuklidы	Stroncium ⁸⁹ Sr	Rhenium ¹⁸⁶ Re	Samarium ¹⁵³ Sm
Postavení v periodické soustavě prvků	druhá hlavní podskupina (kovy alkalických zemin)	sedmá vedlejší podskupina	skupina lanthanoidů (kovy vzácných zemin)
Poločas rozpadu(dny)	50,5	3,7	1,9 (46,3 h)
Druh záření	β	β a γ	β a γ
Maximální E β (MeV)	1,49	1,07	0,81
Energie γ (keV)	-	137	103
Maximální dolet e^- (mm)	8	5	3
Scintigraf.zobrazitelnost	ne	ano	ano
Chemická forma	chlorid	HEDP	EDTMP
Léková forma	inj.i.v.	inj.i.v.	inj.i.v.
Pozorovaný účinek	až 79 %	až 90 %	65-89 %
Nežádoucí účinky	minimální	minimální	minimální
Výhody	ambulantní léčba	ambulantní léčba	ambulantní léčba
Nevýhody	cena	cena a dostupnost	dostupnost
Přípravek	Metastron (Amersham, GB)	Osteopal (Mallinckrodt, Nizozemí/USA)	Ústav jaderného výzkumu Řež, a.s.
Cena (Kč/1MBq)	406,90	není stanovena	není stanovena

Tabulka 1

Ačkoliv tato metoda tišení bolesti nedosáhla ještě masového rozšíření, lze předpokládat, že její význam poroste zejména s rostoucími úspěchy při léčbě onkologických onemocnění. Většina literárních pramenů uvádí, že až u 30-70 % pacientů se zhoubnými nádory se najdou při pitvě metastázy do skeletu, samozřejmě záleží na

přesné diagnóze. Stručný přehled onkologických diagnóz s pozorovanou intenzitou výskytu sekundárních metastáz uvádíme pro ilustraci v tabulce 2.

Přehled některých onkologických diagnóz s frekvencí výskytu kostních metastáz a jejich charakterem v RTG obraze (převzato z (35))		
Diagnóza	Výskyt kostních metastáz	RTG charakter metastáz
Karcinom prsu	60-80 %	osteolytické a/nebo smíšené, také osteoplastické
Karcinom plic	30-55 %	osteolytické a/nebo smíšené, vzácněji osteoplastické
Karcinom ledvin	25-40 %	konstantně osteoplastické
Karcinom rekta	6 - 13 %	osteolytické méně často smíšené, vzácně osteoplastické
Karcinom pankreatu	13-15 %	osteolytické nebo smíšené, vzácně osteoplastické
Karcinom žaludku	3 - 11%	osteolytické nebo smíšené, zcela vyjímcně osteoplastické
Karcinom prostaty	35-85 %	vzácně osteolytické, hlavně osteoplastické
Karcinom štítné žlázy	20-60 %	konstantně osteolytické
Neuroblastom	50-70 %	osteolytické nebo smíšené
Plazmocytom	75-95 %	osteolytické až obraz pokročilé difuzní osteoporózy

Tabulka 2.

2.4. Výroba radionuklidů pro nukleární medicínu

Pro potřeby nukleární medicíny se umělé radionuklidy vyrábějí v cyklotronech a jaderných reaktorech. Také velmi často používanými jsou zdroje krátkodobých radionuklidů nazývané radionuklidové generátory. V cyklotronu jsou elektromagnetickým polem urychlovány částice s nábojem, které ozařují terčová jádra, kde probíhají jaderné reakce. Aby nevznikaly žádné nežádoucí radionuklidy, musí být ozařovaný velmi materiál čistý a energie ozařujících částic musí být přesně stanovena. Radionuklidy vyráběné v cyklotronu jsou beznosičové, protože v důsledku odlišného atomového čísla od ozařovaných prvků neobsahují žádné stabilní izotopy vyráběného radionuklidu. Dále je také nezbytná izolace radionuklidů příslušnými chemickými metodami.

K radionuklidům vyráběným v cyklotronu a rutinně užívaným v nukleární medicíně patří ^{67}Ga , ^{123}I , ^{111}In a ^{201}Tl pro SPET zobrazování a krátkodobé radionuklidy ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O a ^{18}F pro PET zobrazovací systémy. V jaderném reaktoru se vyrábějí různé radionuklidy, buď pomocí aktivace vzorku tepelnými neutrony, nebo pomocí chemické izolace radionuklidů z vyhořelých palivových článků. Příkladem klinicky užívaných radionuklidů vyráběných v jaderném reaktoru může být ^{131}I , ^{99}Mo , ^{133}Xe , ^{59}Fe , ^{51}Cr , ^{169}Yb , ^{32}P , ^{166}Ho , ^{177}Lu , a další. Izotopy různých prvků jsou oddělovány příslušnými chemickými postupy, ale v důsledku podobného chemického chování bývá obvykle problematické izolovat požadovaný radionuklid. Výsledným produktem aktivace je nosičový preparát, jehož *aktivita* A v čase t od počátku ozařování je teoreticky dána vztahem :

$$A = \frac{mN_A}{M} \nu w (\sigma_i \phi_i + \sigma_e \phi_e) \left(1 - 2^{-\frac{t}{T}} \right) \quad 1.$$

a *měrná aktivita* a pak rovnici:

$$a = \frac{A}{m} = \frac{N_A}{M} \nu w (\sigma_i \phi_i + \sigma_e \phi_e) \left(1 - 2^{-\frac{t}{T}} \right), \quad 2.$$

kde

A	aktivita	Bq
a	měrná aktivita	Bq/g
m	hmotnost vzorku	g
N_A	Avogadrova konstanta	$6,023 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$
w	zastoupení izotopu v přirozené směsi nuklidů	-
M	molární hmotnost	g.mol^{-1}
σ_t	účinný průřez pro absorpci term. neutronů	cm^2
σ_e	účinný průřez pro absorpci epiterm. neutronů	cm^2
Φ_t	hustota toku termálních. neutronů	$\text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
Φ_e	hustota toku epitermálních. neutronů	$\text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
T	poločas přeměny	h
t	doba ozařování v reaktoru	h
v	stechiometrický koeficient	-

Ve vztazích je zanedbán pokles počtu terčových jader v průběhu ozařování, tzv. *vyhořívání terče*. Pokud je doba ozařování delší než 10 poločasů kýženého izotopu , je dosaženo takzvané *saturační aktivity* A^{sat} dané rovnicí:

$$A^{sat} = \frac{m v N_A}{M} w (\sigma_t \phi_t + \sigma_e \phi_e). \quad 3.$$

Maximální měrná aktivita, které lze přímou aktivací dosáhnout, je *měrná saturační aktivity* a^{sat} daná podílem saturační aktivity a navážky vzorku :

$$a^{sat} = \frac{A^{sat}}{m} = \frac{v N_A}{M} w (\sigma_t \phi_t + \sigma_e \phi_e), \quad 4.$$

kde všechny symboly mají výše uvedený význam.

V aktivační technice má důležitou úlohu forma, ve které se daný prvek (nuklid) ozařuje neutrony, nebo bombarduje nabitými ionty. Vlastnosti terče je nutno posuzovat z několika hledisek, a to podle požadavků jaderných, chemických, a fyzikálních.

V ideálním případě je terčový prvek v elementární (kovové) formě. Pokud to není možné, dává se přednost takovým sloučeninám, jejichž ostatní prvky se za daných podmínek neaktivují, nebo vznikají jen slabé, velmi krátkodobé nebo velmi dlouhodobé aktivity. Zvolená sloučenina musí mít co nejvyšší radiační stabilitu.

Ze dvou terčových sloučenin jinak stejně vyhovujících již uvedeným požadavkům je výhodnější ta, která obsahuje terčový nuklid ve větší koncentraci.

Skupenství a těkavost jsou vlastnosti velmi důležité při aktivačních procesech, při kterých se terč silně zahřívá. Tuto okolnost musíme mít na zřeteli, i když aktivujeme jen krátce, zato v aktivní zóně reaktoru. Na fyzikálních vlastnostech aktivované látky závisí také způsob jejího zapouzdření pro aktivaci. Pokud bude aktivace krátká a terčová látka je v podmínkách zvoleného aktivačního kanálu stabilní nejsou třeba žádná zvláštní opatření. Pakliže tomu tak není, je třeba pouzdra balit do kovové folie, případně použít chlazení vodou protékající kolem pouzder.

3. PLÁN EXPERIMENTŮ

3.1. Příprava lutecia ^{177}Lu

Radionuklid lutecium ^{177}Lu lze připravit několika způsoby. Jedním z nich je reakce $^{176}\text{Yb}(n,\gamma)^{177}\text{Yb}$ následovaná β rozpadem vzniklého ^{177}Yb za vzniku ^{177}Lu , která se využívá k přípravě beznosičových preparátů o vysoké měrné aktivitě. K oddělení čistého izotopu lze použít například amalgámovou metodu (1). Další možností je použití radionuklidového generátoru $^{177}\text{Yb} \rightarrow ^{177}\text{Lu}$, jeho nevýhodou jsou však vysoké pořizovací náklady. Třetí a rozhodně nejvíce používanou metodou je aktivace přírodního lutecia tepelnými neutrony v jaderném reaktoru. Přírodní lutecium se skládá ze dvou izotopů ^{175}Lu a ^{176}Lu s jednoznačně převažujícím ^{175}Lu (97,41 %) a minoritním ^{176}Lu (2,59 %) (30). I když je nevýhodou, že vzniká izotop mateřského nuklidu, který

nelze bez využití Szilard-Chalmersova efektu chemicky oddělit, je díky mimořádně vysokému účinnému průřezu lutecia ^{176}Lu pro tepelné neutrony možno snadno připravit preparáty o vysoké absolutní aktivitě (například stohodinovým ozařováním 100 mg $^{\text{nat}}\text{Lu}$ neutronovým tokem $10^{14} \text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ lze dosáhnout specifické aktivity až 1,15 GBq/ μmol , která být ještě navýšena téměř 36 krát použitím lutecia ^{176}Lu obohaceného na 95%). Vzhledem k těmto výhodám a k nenáročnosti provedení převyšuje tato metoda ostatní všude tam, kde je možný přístup k atomovému reaktoru.

3.1.1. Volba terče

V literatuře se lze setkat celkem se třemi variantami terčového materiálu pro aktivaci lutecia. Gisela a Sola (2) používají jako terč Lu_2O_3 , ten po aktivaci rozpustí v 0,1 M kyselině dusičné, kdežto Stimmel a Frederick (3) vychází také z Lu_2O_3 , ale ten rozpustí ještě před aktivací, a ozařují až vzniklý dusičnan. Další možností je použití chloridu lutecitého opět připraveného rozpuštěním aktivovaného oxidu (4,5,6), nebo přímo již jako terčového materiálu (7).

3.1.2. Oxid lutecitý

je bílá tuhá látka, nejvíce při nižších teplotách žádnou patrnou tenzi par (8). Až teprve při teplotách 1800-1950 °C dochází k masivnějšímu odpařování a zároveň k termickému rozkladu a redukci oxidu přítomného v parách. Hlavními produkty tohoto rozkladu jsou LuO , kyslík a kovové lutecium (9). Tato skutečnost komplikuje stanovení bodu tání oxidu, který byl opakovaně stanovován různými autory (10,11,12) a to nejprve na 2367 ± 30 °C (13) (měření prováděno v ochranné argonové atmosféře), dále pak na 2400 ± 50 °C (14) a nakonec zpřesněn na 2447 °C (15,16), (obě měření byla prováděna na vzduchu bez ochranné atmosféry). Bod varu byl stanoven přibližně na 3315 ± 5 °C (17).

3.1.3. Dusičnany lutecité.

Díky silným oxidačním účinkům kyseliny dusičné má lutecium ve svých dusičnanech vždy oxidační číslo 3^+ . Jednotlivé preparáty se od sebe liší pouze rozdílným počtem molekul vody vázané v krystalové mřížce.

$\text{Lu}(\text{NO}_3)_3$. Bezdvody dusičnan lutecitý lze připravit například několikadenním působením nadbytku N_2O_4 na jemně rozptýlené kovové lutecium suspendované v ethylacetátu. Nezreagované lutecium se odfiltruje, nadbytek N_2O_4 se vypudí z roztoku snížením tlaku a ethylacetát se oddělí destilací za sníženého tlaku. Zbylý adukt se rozloží zahříváním ve vakuu na $200\text{ }^\circ\text{C}$ (18). Z $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 4\text{ H}_2\text{O}$ ho lze připravit opatrným zahříváním na $220\text{ }^\circ\text{C}$. Teplota však nesmí překročit $230\text{ }^\circ\text{C}$, neboť při vyšší teplotě dochází k rozkladu za uvolnění oxidu dusíku (19).

$\text{Lu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{ H}_2\text{O}$. Pentahydrát dusičnanu lutecitého krystalizuje z koncentrovaného roztoku $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3$ naočkovánoho $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$. Látka snadno uvolňuje krystalovou vodu, ve které se ihned rozpouští, takže její krystaly se rozplývají již na suchém vzduchu (20).

$\text{Lu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 4,5\text{ H}_2\text{O}$. Příprava $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 4,5\text{ H}_2\text{O}$ je totožná jako u $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{ H}_2\text{O}$ pouze s tím rozdílem, že se pro zaočkování roztoku použije $\text{Sr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 4\text{ H}_2\text{O}$ a látka jeví tytéž vlastnosti jako $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{ H}_2\text{O}$ (20).

$\text{Lu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 4\text{ H}_2\text{O}$. Tetrahydrát dusičnanu lutecitého je nejstabilnější a je proto také nejpoužívanější rozpustnou solí lutecia. Připravuje se rozpuštěním Lu_2O_3 v minimálním množství 6 M kyseliny dusičné a odpařením vzniklého roztoku na poloviční objem. $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 4\text{ H}_2\text{O}$ se vyloučí stáním nad konc. kyselinou sírovou (21).

$\text{Lu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 3\text{ H}_2\text{O}$. Trihydrát dusičnanu lutecitého se připraví smíšením stejných objemů nasyceného vodného roztoku $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3$ a dýmové kyseliny dusičné. Přidá se takové množství Lu_2O_3 , které stechiometricky odpovídá množství kyseliny dusičné a teplota se udržuje po několik hodin mezi $60 - 70\text{ }^\circ\text{C}$. Po filtrace se odkouří zbylá kyselina, roztok se odpaří téměř do sucha a rozpuštěním odparku v minimálním množství vody a jejím opětovným odpařením se odstraní poslední zbytky kyseliny dusičné. Odparek se znovu zahřívá až k bodu tání, trihydrát dusičnanu lutecitého z něj vyloučí stáním nad kyselinou sírovou v exsikátoru (22).

Hydratované dusičnany uvolňují postupně již za pokojové teploty svoji krystalovou vodu a při 42 °C přecházejí kvantitativně na nestabilnější krystalickou formu - tetrahydrát. Ten je tepelně stálý až do 220-230 °C kdy ztrácí svoji krystalovou vodu za vzniku bezvodého dusičnanu lutecitého. Jeho zahříváním na teplotu mezi 370-390 °C dochází k jeho rozkladu a vzniká LuO(NO₃), který se při zvýšení teploty nad 470 °C přechází na konečný produkt Lu₂O₃ (19,23).

3.1.4. Chlorid lutecitý a jeho hydratované formy.

Chlorid lutecitý LuCl₃ je bílý krystalický prášek, s bodem tání 892 °C (24), podle jiných autorů 905 °C (25)) a bodem varu okolo 1480 °C (24). Na vzduchu je silně hygroskopický, vzdušnou vlhkostí přechází na řadu svých hydrátů, podobně jako Lu(NO₃)₃ (26) . Většinou pro svou nestabilitu nebyly přesně definovány, v literatuře je zmiňován pouze hexahydrát LuCl₃ · 6 H₂O.

LuCl₃ · 6 H₂O. Hexahydrát chloridu lutecitého bývá také někdy formulován jako hexaaquadichlorolutecium(1+) chlorid, tedy jako komplex [LuCl₂(OH₂)₆]Cl s koordinačním číslem lutecia jedna (27). Jeho bod tání bývá nejčastěji uváděn 157 °C (28), jiní autoři uvádí hodnoty 148-150 °C (29).

3.1.5. Volba cílové aktivity

Protože poločas cíleného ¹⁷⁷Lu je poměrně dlouhý (6,71 dní) a všechny plánované experimenty budou vyhodnocovány pomocí citlivých přístrojů (¹⁷⁷Lu při nich slouží vlastně jako stopovač reakcí probíhajících i s neaktivovaným přírodním luteciem), není nutné připravovat ¹⁷⁷Lu o příliš vysoké celkové aktivitě, také s ohledem na snadnou a bezpečnou práci a minimalizaci odpadů.

Oba přírodní izotopy se účastní reakce (n,γ) s tepelnými neutrony, přičemž z každého z nich vznikají další dva izotopy a to bud stabilní, nebo podléhající radioaktivní přeměně. Údaje uvedené v tabulce jsou převzaty z (4).

Isotop	Přirozené zastoupení (%)	Účinný průřez pro(n,γ) (barn)	Účinný průřez pro (n,γ) (fm ²)	Produkt reakce	Poločas přeměny produktu	Produkt přeměny	Energie elektronů (keV)	Energie γ-fotonů (keV)
¹⁷⁵ Lu	97,4	7	7,00·10 ⁻²³	¹⁷⁶ Lu	Stabilní			
		16,4	1,64·10 ⁻²²	^{176m} Lu	3,7h	¹⁷⁶ Hf (stabilní)	1,2	88
¹⁷⁶ Lu	2,6	2100	2,10·10 ⁻²⁰	¹⁷⁷ Lu	6,71d	¹⁷⁷ Hf (stabilní)	0,497	72; 133; 208 250; 321
		7	7,00·10 ⁻²³	^{177m} Lu	60,5d	¹⁷⁷ Hf (stabilní)	0,2	128; 153 228; 378 414; 418

Tabulka 3.

Pro určení aktivační doby nutné k dosažení potřebné aktivity jsem použil program vytvořený Ing. Kropáčkem od něhož jsem také získal povolení k jeho použití a publikaci takto získaných hodnot. Jedná se o aplikaci v prostředí Microsoft Excel pro výpočet aktivity ozařovaného vzorku o dané hmotnosti a účinnému průřezu jeho složek v závislosti na čase a hustoty toku neutronů.

Vzorce pro aktivaci:

$$\text{Aktivita: } A = \sigma \cdot N \cdot \Phi \cdot (1 - 2^{-t/T})$$

$$\text{Vyhřívání terče: } N = N_0 \cdot e^{-\sigma \phi t}$$

$$\text{Saturační aktivita: } A_{\text{sat}} = \sigma \cdot N \cdot \Phi$$

$$\text{Počet atomů produktu: } N^* = (T/\ln 2) \cdot N \cdot \Phi \cdot \sigma \cdot (1 - 2^{-t/T})$$

Charakteristika terče:

Navážka vzorku	m	0,01 g
Molární hmotnost	Mr	397,9 g/mol
Stechiometrický koeficient	v	2
Zastoupení nuklidu	Z	2,6 %
Počet terčových jader	N ₀	7,871·10 ¹⁷ atomů

Charakteristika ozařování:

Účinný průřez:	$\sigma = 2,1 \cdot 10^{-20} \text{ cm}^2$
Hustota toku neutronů:	$\Phi = 3,0 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$
Doba ozařování:	t = 0,01 h
Poločas přeměny	T = 161,04 h

Výsledek pro ¹⁷⁷Lu:

Doba ozařování	0,01 h	1 h
Saturační aktivita vzorku	$4,96 \cdot 10^{11} \text{ Bq}$	$4,96 \cdot 10^{11} \text{ Bq}$
Saturační aktivita na 1g	$4,96 \cdot 10^{13} \text{ Bq}$	$4,96 \cdot 10^{13} \text{ Bq}$
Aktivita preparátu na konci ozařování	$2,13 \cdot 10^7 \text{ Bq}$	$2,13 \cdot 10^9 \text{ Bq}$
Aktivita na 1g na konci ozařování	$2,13 \cdot 10^9 \text{ Bq/g}$	$2,13 \cdot 10^{11} \text{ Bq/g}$

Tabulka 4.

Stejným způsobem byly vypočteny hodnoty i pro další aktivity vznikající při ozařování, tj. ^{177m}Lu a ^{176m}Lu .

Data pro vznik ^{177m}Lu :

Účinný průřez: $\sigma = 7,0 \cdot 10^{-23} \text{ cm}^2$

Poločas přeměny $T = 3852,0 \text{ h}$

Výsledek:

Doba ozařování	0,01 h	1 h
Saturační aktivita vzorku	$1,65 \cdot 10^9 \text{ [Bq]}$	$1,65 \cdot 10^9 \text{ [Bq]}$
Saturační aktivita na 1g	$1,65 \cdot 10^{11} \text{ [Bq]}$	$1,65 \cdot 10^{11} \text{ [Bq]}$
Aktivita preparátu na konci ozařování	$2,97 \cdot 10^3 \text{ [Bq]}$	$2,97 \cdot 10^5 \text{ [Bq]}$
Aktivita na 1g na konci ozařování	$2,97 \cdot 10^5 \text{ [Bq/g]}$	$2,97 \cdot 10^7 \text{ [Bq/g]}$

Tabulka 5.

Data pro vznik ^{176m}Lu :

Účinný průřez: $\sigma = 1,64 \cdot 10^{-22} \text{ cm}^2$

Poločas přeměny $T = 3,5 \text{ h}$

Výsledek:

Doba ozařování	0,01 h	1 h
Saturační aktivita vzorku	$1,45 \cdot 10^{11} \text{ [Bq]}$	$1,45 \cdot 10^{11} \text{ [Bq]}$
Saturační aktivita na 1g	$1,45 \cdot 10^{13} \text{ [Bq]}$	$1,45 \cdot 10^{13} \text{ [Bq]}$
Aktivita preparátu na konci ozařování	$2,87 \cdot 10^8 \text{ [Bq]}$	$2,87 \cdot 10^{10} \text{ [Bq]}$
Aktivita na 1g na konci ozařování:	$2,87 \cdot 10^{10} \text{ [Bq/g]}$	$2,87 \cdot 10^{12} \text{ [Bq/g]}$

Tabulka 6.

Na celkové aktivitě se tedy podílejí tři dílčí aktivity. Nejvýznamnější složku tvoří aktivita ^{176m}Lu . Ačkoliv je účinný průřez pro reakci $^{175}\text{Lu} (\text{n},\gamma)^{176m}\text{Lu}$ jen 6 barnů, díky velmi majoritnímu zastoupení ^{175}Lu v přírodním luteciu (97,4%) takto vzniklá aktivita zcela převýší aktivitu lutecia ^{177}Lu .

Izotop	Hmotnost vzniklého produktu jako Lu_2O_3 [g]	Příspěvek k celkové hmotnosti produktů [%]	Aktivita produktu na konci ozařování [Bq]	Aktivitní příspěvek [%]
^{176m}Lu	$0,11 \cdot 10^{-8}$	18,11	$2,87 \cdot 10^8$	91,09
^{177}Lu	$5,89 \cdot 10^{-7}$	81,67	$2,13 \cdot 10^7$	8,91
^{177m}Lu	$2,17 \cdot 10^{-11}$	0,22	$2,97 \cdot 10^3$	0,0012

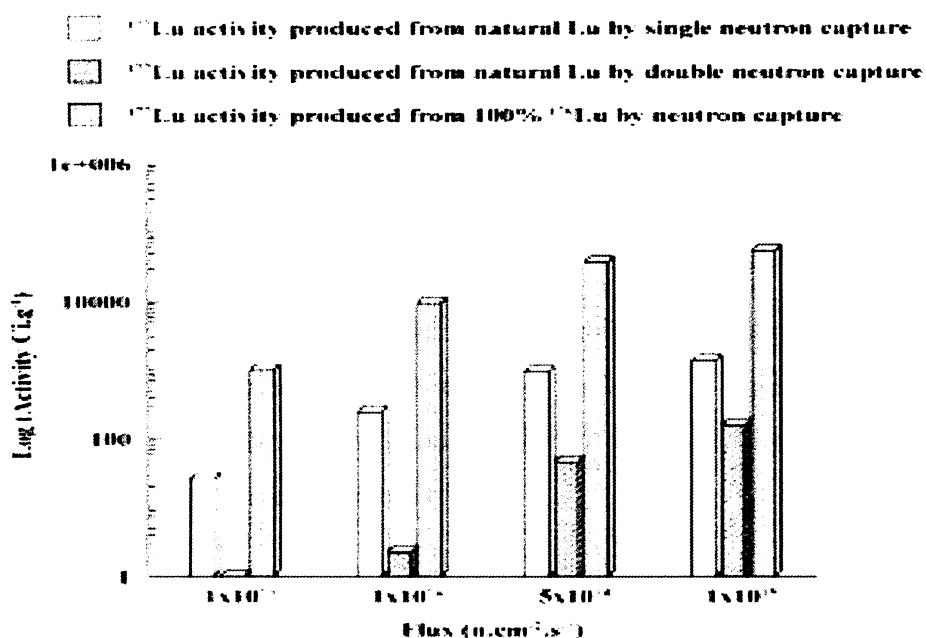
Tabulka 7.

Lutecium ^{176m}Lu má naštěstí mnohem kratší poločas (3,7 h) oproti ^{177}Lu (6,71 d), takže už po 24 hodinách (tj.asi 6,4 poločasů) klesne jeho aktivita zhruba na jedno procento a po třech dnech se sníží víc než o šest řádů, tedy na zcela zanedbatelnou hodnotu jak oproti jeho původní aktivitě, tak oproti již převažující aktivitě ^{177}Lu , která je v tu dobu o pět řádů vyšší. Aktivita ^{177m}Lu zůstává díky svému poločasu 60,5 dne prakticky konstantní po celou předpokládanou dobu práce.

Izotop	0 hodin po aktivaci		24 hodin po aktivaci		48 hodin po aktivaci		72 hodin po aktivaci	
	Aktivita [Bq]	[%]	Aktivita [Bq]	[%]	Aktivita [Bq]	[%]	Aktivita [Bq]	[%]
^{176m}Lu	$2,87 \cdot 10^8$	100%	$3,19 \cdot 10^6$	1,11	$2,87 \cdot 10^4$	0,01	$3,93 \cdot 10^2$	$1,3 \cdot 10^{-4}$
^{177}Lu	$2,13 \cdot 10^7$	100%	$1,92 \cdot 10^7$	90,19	$1,73 \cdot 10^7$	81,33	$1,56 \cdot 10^7$	73,35
^{177m}Lu	$2,97 \cdot 10^3$	100%	$2,95 \cdot 10^3$	99,60	$2,94 \cdot 10^3$	99,14	$2,93 \cdot 10^3$	98,71
Celk.	$3,08 \cdot 10^8$	100%	$2,24 \cdot 10^7$	7,27	$1,73 \cdot 10^7$	5,61	$1,56 \cdot 10^7$	5,06

Tabulka 8.

Při aktivaci lutecia přirozeného izotopového složení dochází také ke dvojitému záchytu tepelných neutronů na izotopu ^{175}Lu . Tento sled reakcí $^{175}\text{Lu} (\text{n},\gamma) ^{176}\text{Lu} (\text{n},\gamma)$ ^{177}Lu se však v prakticky registrovatelné formě projevuje teprve při vysokých hustotách neutronového toku (vyšších než $10^{14} \text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$) a dlouhých (několikadenních) aktivačních časech. Výtěžek takto získaného lutecia ^{177}Lu s hustotou neutronového toku roste a tento nárůst je přímo úměrný jeho druhé mocnině (4).



Obr.1: Aktivita ^{177}Lu získaného aktivací ^{176}Lu a ^{175}Lu (dvojitý záchyt) v přírodním Lu terči ve srovnání s aktivitou ^{177}Lu získanou ozařováním terče 100% obohaceného na ^{176}Lu při 7 denním ozařování různým tokem tepelných neutronů.

(Graf převzat z [4]).

V našem případě vzhledem k velikosti hustoty neutronového toku a celkem nepatrné aktivační době nebude mít takto vzniklý přírůstek aktivity ^{177}Lu žádný praktický význam (je ještě řádově menší než příspěvek ^{177m}Lu) a při výpočtech jej vůbec nemusíme uvažovat. (k výpočtům jsem používal údaj pro neutronový tok $3,0 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$, neboť tuto hodnotu používal výpočetní program pro plánování přípravy izotopů holmia).

3.2. Syntéza a studium komplexů lutecia :

Pro studii komplexních sloučenin lutecia tenkovrstvou chromatografií jsem na základě literárních dat zvolil tuto posloupnost kroků:

- 1) Syntéza vlastního komplexu
- 2) Nalezení chromatografického systému, ve kterém dochází k separaci komplexu od ostatních anorganických sloučenin lutecia
- 3) V tomto systému otestovat závislost výtěžku komplexace na pH
- 4) V tomto systému a vybraném optimálním pH otestovat závislost výtěžku komplexace na poměru koncentrací kov : ligand
- 5) V tomto systému a vybraném optimálním poměru koncentrací kov : ligand a vybraném pH otestovat stabilitu komplexu v závislosti na čase

Všechny tyto kroky provést se všemi třemi komplexotvornými činidly, tedy s diethylentetraaminpentaoctovou kyselinou (DTPA), ethylendiamin-N,N,N,N-tetrakis(methylen fosfonovou) kyselinou (EDTMP) a 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-N,N',N'',N'''-tetraoctovou kyselinou (DOTA).

Ad 1) Syntézu vlastního komplexu provést vždy před jeho použitím. Složení reakční směsi se mění podle sledovaného parametru (závislost na pH, na poměru kov: činidlo) a postup přípravy jednotlivých roztoků je vždy uveden v tabulce u každého prováděněho kroku. Hodnotu pH upravit ve všech případech na žádanou hodnotu přídavkem potřebného množství roztoku kyseliny dusičné nebo hydroxidu sodného vždy o koncentraci 0,1 mol/l. Reakční směsi ve všech případech ponechat po úpravě pH stát 30 minut.

Pro nalezení vhodného chromatografického systému pro komplexy lutecia s jednotlivými činidly použít pro systém Lu:DOTA vzorek o poměru Lu:DOTA 1:2 a pH 7 (byl s úspěchem použit při in vitro i in vivo studiích (7), pro systém Lu: DTPA vzorek o poměru Lu: DTPA 1:2,2 a pH 7 (7) a pro systém Lu:EDTMP vzorek o poměru Lu:EDTMP 1:20 a pH 8-9 (s úspěchem použil Sola a Arguelles, opět jak při in vitro i in vivo studiích (2)). Pro přehlednost údaje o těchto systémech „první volby“ uvedeny v tab.:

Sledovaný systém	Mobilní fáze	Vzorek	Poznámka	Literatura
Lu: DOTA	Hydroxyl amin/methanol/voda 0,2 : 2 : 4	Lu(NO ₃) ₃ :DOTA 1 : 2 pH= 7	Velmi ostré dobře oddělené píky, R _f Lu(NO ₃) ₃ =0 R _f Lu-DOTA= 0,9-1	7
Lu: DTPA	Hydroxyl amin/methanol/voda 0,2 : 2 : 4	Lu(NO ₃) ₃ : DTPA 1:2,2 pH 7	Velmi ostré dobře oddělené píky, R _f Lu(NO ₃) ₃ =0 R _f Lu-DTPA = 0,9-1	7
Lu:EDTMP	Voda (100%)	Lu(NO ₃) ₃ :EDTMP 1:20 pH 8-9	Velmi ostré dobře oddělené píky, R _f Lu(NO ₃) ₃ =0 R _f Lu-DTPA = 0,9-1	2

Tabulka 9.

Ad 2) Volbu vhodného chromatografického systému, ve kterém dochází k separaci komplexu od ostatních anorganických sloučenin lutecia lze nalézt v literatuře, kde byl hledaný systém zmiňován v souvislosti se separací nebo stanovováním radiochemické čistoty studovaného komplexu. Protože ke všem stanovením má být použito tenkovrstvá chromatografie (TLC), dával jsem vždy přednost těm datům, které se jí týkaly, pouze pokud nebylo možné nalézt použití TLC soustavy uvádím alespoň podmínky pro papírovou chromatografiu, která je při studii komplexních sloučenin lutecia jednoznačně nejpoužívanější chromatografickou metodou a použitá soustava rozpouštědel může být cenným vodítkem k nalezení mobilní fáze pro tenkovrstvou chromatografii. V literatuře jsem nalezl také mnoho údajů týkajících se TLC komplexů holmia s uvedenými komplexotvornými činidly. Některé z nich uvádím také, vzhledem k chemické podobnosti lutecia s holmiem pro případ, že by některé ze soustav nebyly dostatečně funkční, bylo by možné otestovat použitou mobilní fázi i pro komplexy lutecia.

3.2.1. Chromatografický systém lutečium-EDTMP:

Pro chromatografický systém, ve kterém dochází k separaci komplexu lutečium-EDTMP od ostatních anorganických sloučenin lutecia, tj. hlavně nezreagovaného $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3$ (případně LuCl_3) a produktů jeho hydrolyzy jsem nalezl tyto kombinace pevné a mobilní fáze:

Pevná fáze	Mobilní fáze	Vzorek	Poznámka	Literatura
Gelman ITLC-SG	Voda (100%)	$\text{Lu}(\text{NO}_3)_3:\text{EDTMP}$ 1:20 pH=8-9 reakční doba 20 minut při pokoj. teplotě,dále 45 minut při 75°C	Velmi ostré dobře oddělené píky, $R_f \text{Lu}(\text{NO}_3)_3 = 0$ $R_f \text{Lu-EDTMP} = 0,9-1$	2
Sephadex C-25	Fyziologický roztok (0,9 % NaCl)	$\text{Lu}(\text{NO}_3)_3:\text{EDTMP}$ 1:20 pH=8-9 reakční doba 20 minut při pokoj. teplotě,dále 45 minut při 75°C	Velmi ostré dobře oddělené píky, $R_f \text{Lu}(\text{NO}_3)_3 = 0$ $R_f \text{Lu-EDTMP} = 0,9-1$	2
Whatman No.3	$\text{NH}_3/\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ 1 : 10 : 20	$\text{LuCl}_3 : \text{EDTMP}$ 1: 5 0,5M NaHCO_3 pH =9 reakční doba 15 minut	Velmi ostrý dobře oddělený pík Lu-EDTMP, rozmytý pík LuCl_3 $R_f \text{LuCl}_3 = 0$ $R_f \text{Lu-EDTMP} = 0,9-1$	5

Tabulka 10.

3.2.2. Chromatografický systém lutečium-DTPA:

Pro chromatografický systém, ve kterém dochází k separaci komplexu lutečium-DTPA od ostatních anorganických sloučenin lutecia, tj. hlavně nezreagovaného $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3$ a produktů jeho hydrolyzy jsem nalezl tyto kombinace pevné a mobilní fáze:

Pevná fáze	Mobilní fáze	Vzorek	Poznámka	Literatura
Bakerflex silicagel chromatography strip (Fisher scientific)	Hydroxylamin/methanol/voda 0,2 : 2 : 4	$\text{Lu}(\text{NO}_3)_3$: DTPA 1: 2 pH= 7 reakční doba 30 minut	Velmi ostré, dobře oddělené píky, $R_f \text{Lu}(\text{NO}_3)_3 = 0$ $R_f \text{Lu- DTPA} = 0,9-1$	7
Whatman Plates Cat. 4865821	10%octan sodný/metanol 1 : 1	$\text{Lu}(\text{NO}_3)_3$: DTPA 1 : 2 0,1 M octan ammoný pH = 6 reakční doba 2 hodiny, pak 0,1 M fosforečnan sodný na pH = 6,7 (terminace chelatace)	Velmi ostré dobře oddělené píky, $R_f \text{Lu}(\text{NO}_3)_3 = 0$ $R_f \text{Lu- DTPA} = 0,9-1$	3

Tabulka 11.

Dále uvádím údaje pro chromatografický systém, ve kterém dochází k separaci komplexu holmium-DTPA od ostatních anorganických sloučenin holmia:

Pevná fáze	Mobilní fáze	Vzorek	Poznámka	Literatura
Gelman ITLC-SG	MeOH/H ₂ O/AcOH 49 : 49 : 2	Ho(NO ₃) ₃ : DTPA 1:5 pH=1,1 reakční doba 1 hodina	Velmi ostré dobře oddělené píky, R _f Ho(NO ₃) ₃ =0,16 R _f Ho-DTPA=0,9-1,0	3
Whatman No 1	Fyziologický roztok (0,9 % NaCl)	HoCl ₃ : DTPA 2:1 pH=6,1 reakční doba 1 hodina	Velmi ostré dobře oddělené píky, R _f HoCl ₃ =0,1 R _f Ho-DTPA=0,9-1,0	1

Tabulka 12.

3.2.3. Chromatografický systém lutecium-DOTA:

Pro chromatografický systém, ve kterém dochází k separaci komplexu lutecium-DOTA od ostatních anorganických sloučenin lutecia, tj. hlavně nezreagovaného Lu(NO₃)₃ a produktů jeho hydrolýzy jsem nalezl tyto kombinace pevné a mobilní fáze:

Pevná fáze	Mobilní fáze	Vzorek	Poznámka	Literatura
Bakerflex silicagel chromatography strips	Hydroxyl amin/methanol/voda 0,2 : 2 : 4	Lu(NO ₃) ₃ : DOTA 1 : 2 pH = 7 reakční doba 30 minut	Velmi ostré dobře oddělené píky, R _f Lu(NO ₃) ₃ = 0 R _f Lu-DOTA = 0,9-1	7
Whatman Plates Cat. 4865821	10%octan sodný/metanol 1 : 1	Lu(NO ₃) ₃ : DOTA 1 : 2 0,1 M octan amonný pH = 6 reakční doba 2 hodiny, pak 0,1 M fosforečnan sodný na pH=6,7	Velmi ostré dobře oddělené píky, R _f Lu(NO ₃) ₃ = 0 R _f Lu-DOTA = 0,9-1	3

Tabulka 13.

Dále uvádím údaje pro chromatografický systém, ve kterém dochází k separaci komplexu holmium-DOTA od ostatních anorganických sloučenin holmia:

Pevná fáze	Mobilní fáze	Vzorek	Poznámka	Literatura
Whatman No 1	Fyziologický roztok (0,9 % NaCl)	HoCl ₃ : DOTA 1:3 pH= 6,1 reakční doba 1 hodina	Velmi ostré dobře oddělené šípky, R_f HoCl ₃ = 0,1 R_f Ho-DTPA = 0,9-1,0	31

Tabulka 14.

Ad 3) Hodnotu pH je třeba upravit ve všech případech na žádanou hodnotu přídavkem potřebného množství roztoku kyseliny dusičné nebo hydroxidu sodného vždy o koncentraci 0,1 mol/l. Ke všem stanovením použít vždy stejný objem Lu(NO₃)₃, aby i použitá aktivita na každém chromatogramu byla stejná a výsledky bylo možno snáze porovnat. Měření pH provést na pH metru WTW pH 538 s kombinovanou elektrodou Hamilton minitrode.

Ad 4) Dalším sledovaným parametrem, který ovlivňuje výtěžek reakce je vliv koncentrace příslušného ligandu. Z předchozího stanovení získám nejvhodnější hodnoty pH pro reakci s každým činidlem. Při takto vybraném optimálním pH otestovat závislost výtěžku komplexace na poměru koncentrací kov : ligand: 1:1 , 1:10 , 1:50 , 1:100 , 1:500 , 1:1000 , 1:2500 , 1:5000 , 1:10000. Ke všem stanovením použít vždy stejný objem Lu(NO₃)₃, aby i použitá aktivita na každém chromatogramu byla stejná a výsledky bylo možno snáze porovnat. U všech roztoků upravit pH stejným způsobem jako v předešlém stanovení (0,1M HNO₃ a NaOH).

Ad 5) Dále je třeba otestovat vliv reakčního času na radiochemický výtěžek komplexace. K testování vzít vzorek o optimálním poměru koncentrací kov : ligand a pH získaným předešlými testy vždy pro každé komplexotvorné činidlo. Sledovat časovou závislost výtěžku komplexace iontových forem lutecia v rozmezí 15 minut až 5 hodin v intervalech 15, 30, 60, 90 a 120 minut od přípravy a dále třikrát po jedné hodině od přípravy komplexu (tj. od smísení komponent). Na základě takto získaných údajů bude možné říci, do jaké doby od přípravy je studovaný preparát (klinicky) použitelný.

3.3. Analýza distribuce velikosti částic

K měření rozložení velikosti částic se nejčastěji v rutinní praxi používá granulometrie. Principiálně se jedná o aplikovanou nefelometrickou metodu, využívající laseru jakožto zdroje vysoce intenzivního koherentního a monochromatického záření. Použití laseru umožňuje snadnou eliminaci paprsku, který neinteragoval se vzorkem a snadnou detekci rozptýleného záření (nejčastěji detektor s diodovým polem). Díky tomu lze měřit v ose procházejícího záření, což zaručuje výbornou světlonošnost celého přístroje.

Výsledky jsou zpravidla prezentovány ve formě distribučních $Q(x)$ a frekvenčních $q(x)$ křivek, kde proměnná x znamená velikost částic. Frekvenční křivka je dána derivací distribuční křivky podle logaritmu velikosti částice :

$$q(x) = \frac{dQ(x)}{d(\ln(x))} \quad 5.$$

3.4. Analýza stability *in vitro*

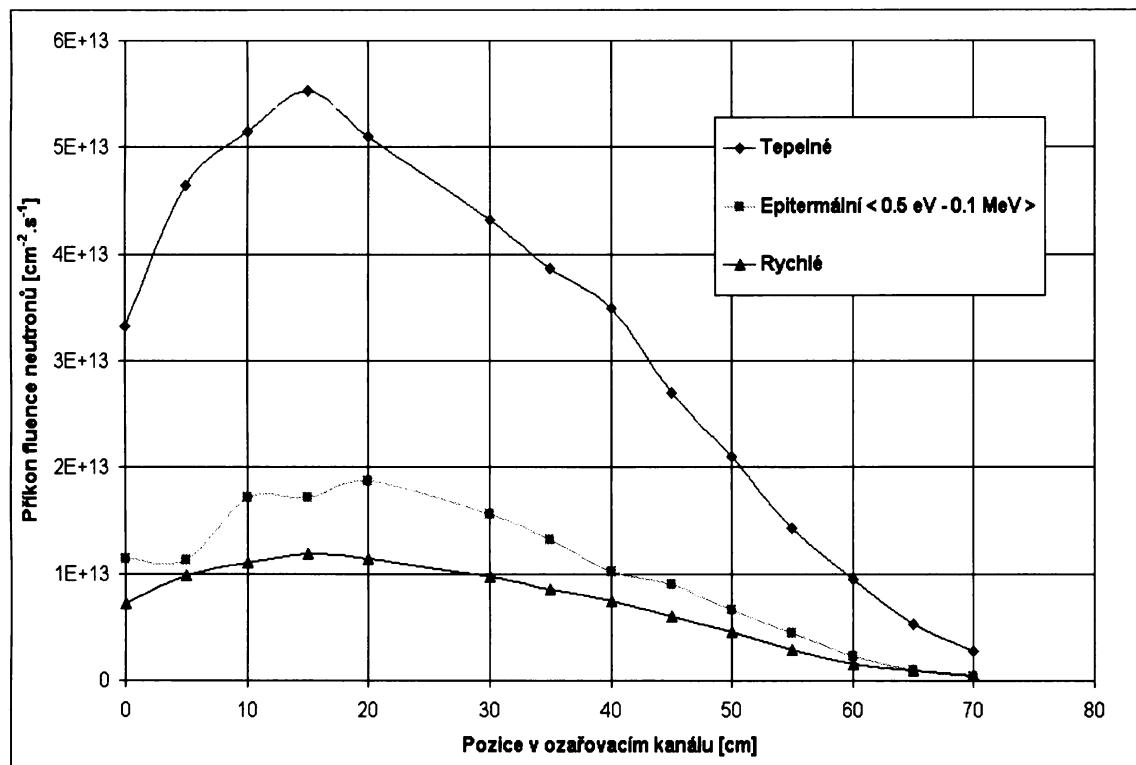
Pro budoucí aplikace preparátů typu suspenzí je velmi důležité zajistit, aby po dostatečně dlouhou dobu nedocházelo k uvolňování radioaktivity z pevné fáze do roztoku (s největší pravděpodobností v důsledku rozpouštění částic). To by mělo za následek únik radioaktivity z místa aplikace a následné koncentrování radioaktivity v necílových orgánech. Jelikož připravená suspenze zřejmě nikdy nebude složena pouze z částic stejné velikosti (monodisperze), je nutné se na proces případného uvolňování radioaktivity z pevné fáze do roztoku dívat jako na rozpouštění polydisperzní tuhé látky.

Tento proces lze ovlivnit mnoha faktory, jako je například iontová síla prostředí, přítomnost různých látek přímo či nepřímo interagujících s léčivem a patrně nejdůležitějším a také mnou studovaným je závislost úniku radioaktivity z pevné fáze do fáze kapalné v závislosti na pH prostředí (roztoku), kterému jsou makroagregáty po delší dobu vystaveny.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1. Způsob a podmínky aktivace v jaderném reaktoru

Aktivace vzorků probíhala v jaderném reaktoru LWR-15 Ústavu jaderného výzkumu a.s. v Řeži u Prahy. Vzorky pro ozařování byly zpočátku navažovány do křemenných ampulí, které byly pak zataveny plamenem. Později byla snaha přejít na jiný typ pouzder, u kterých by zatavování plamenem nebylo nutné. Pro jednoduché anorganické sloučeniny byla použita polyethylenová pouzdra se šroubovacím víčkem. Ampule byly vloženy do tzv. vrtaného hliníkového pouzdra (umožňujícího průchod chladící vody až k ampuli se vzorkem), PE pouzdra byla po uzavření obalena alobalem pro lepší odvod tepla a obalena několika vrstvami plastové folie (zabránění průsaku vody). Pouzdra byla pak vložena do některého z ozařovacích kanálů reaktoru. Radiální rozložení příkonu fluence neutronů v konkrétním kanálu, který je označován jako kanál H5 v závislosti na poloze, znázorňuje obrázek č. 9.



Obr.2: Radiální rozložení příkonu fluence neutronů v kanálu H5

Pro získání prvních zkušeností s radionuklidem Lu-177 byly ozařovány jednoduché anorganické sloučeniny jako oxid lutecitý Lu_2O_3 , později pak obě šarže boromakroagregátů lutecia. Vzorky byly ozařovány v křemenných ampulích či šroubových polyethylénových pouzdrech po dobu jedné hodiny.

4.1.1. Provedení vlastní aktivace

Pro vlastní aktivaci jsem připravil sadu třech křemenných ampulí,(průměr 10,5 mm, délka zhruba 120 mm), každá ampule obsahovala 10 mg předem vysušeného Lu_2O_3 (Fluka chemika, purissimus, deklarováno více než 99,99% připadajících na Lu_2O_3). Zatavené ampule jsem předal aktivační službě, kde byly zabaleny do hliníkové folie a vloženy do ochranného pouzdra. V něm byly ampule ozářeny v aktivačním kanále jaderného reaktoru LVR 15 tepelnými neutrony (neutronový tok $3,0 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ nebo alespoň řádově odpovídající) po dobu 0,01 hodiny (6 minut), výkon reaktoru během ozařování 8,3 MW. Po uplynutí doby aktivace jsem vzorek přemístil do transportního kontejneru a ponechal jej v něm po dobu třech dnů, během kterých došlo k vymření izotopu ^{176m}Lu . Po této době jsem měřil jejich aktivitu pro sestrojení rozpadové křivky.

4.1.2. Příprava zásobního roztoku dusičnanu lutecititého

Pro další zpracování ozářeného terče jsem vycházel z postupu užívaným autory Giselem a Solou (2), tj.použití Lu_2O_3 jako terče a jeho rozpuštění po aktivaci v 0,1 M kyselině dusičné.

V radiochemické digestoři jsem odložil vrchní část křemenné ampule a celý obsah aktivovaného oxidu lutecititého kvantitativně převedl do kádinky, kde jsem jej rozpustil v 1 ml (asi 1000 násobek stechiometrického množství) 0,1 M kyseliny dusičné a odpařil do sucha. Vzniklý odperek jsem rozpustil v 10 ml destilované vody a používáme jej jako zásobní roztok dusičnanu lutecititého o hmotnostní koncentraci 18,158 mg/ml

a molární koncentraci 0,0503 mmol/ml (0,0503 mol/l), což odpovídá hmotnostní koncentraci lutecia 8,801 mg/ml a samozřejmě stejné molární koncentraci 0,0503 mmol/ml (0,0503 mol/l) Lu³⁺. pH se pohybovalo kolem jedné a ani dlouhodobým stáním nebylo patrné vylučování jakékoliv sraženiny způsobené případnou hydrolýzou. Používaný roztok byl bezbarvý a čirý.

4.1.3. Měření celkové aktivity

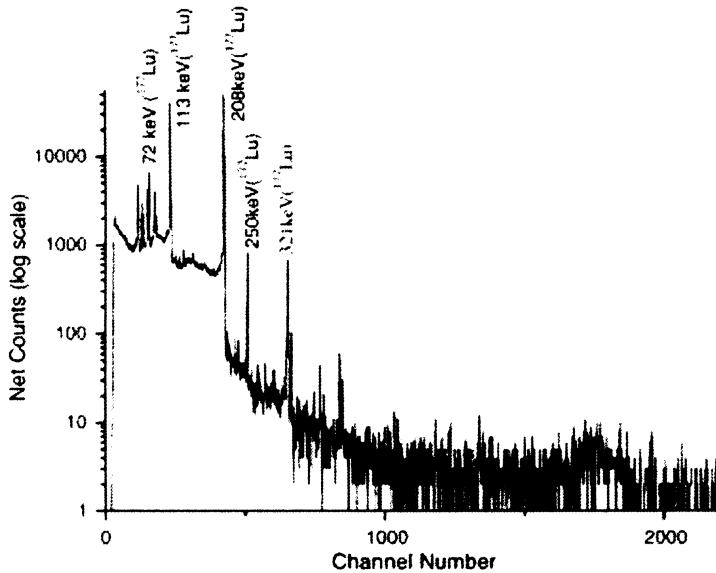
Celkovou aktivitu jsem měřil na přístroji Atomlab 100. Naměřená aktivita bývá poněkud větší, v průměru o padesát procent, než teoretická hodnota získaná výpočtem. Na vinně je patrně příspěvek epitermálních neutronů k celkové aktivaci.

Nicméně hodnota naměřená tři dny po aktivaci zcela překonala všechna očekávání, průměrně $1,28 \cdot 10^8$ Bq je téměř desetkrát více než teoreticky vypočtená hodnota ($1,56 \cdot 10^7$ Bq). Tak veliký rozdíl lze jenom těžko přisuzovat pouhému příspěvku epitermálních neutronů nebo dvojitému záchytu tepelných neutronů na izotopu ¹⁷⁵Lu, tj. sledu reakcí ¹⁷⁵Lu(n,γ)¹⁷⁶Lu(n,γ)¹⁷⁷Lu, který se prakticky projevuje teprve při vysokých neutronových tokích (vyšších než $10^{14} \text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$) a dlouhých (několikadenních) aktivačních časech. Proto si myslím, že během ozařování došlo ke třeba krátkodobému zvýšení toku tepelných neutronů (například při vytahování pouzdra se vzorkem prošel místem s lokálně vysokým tokem neutronů (jak tepelných, tak i epitermálních), což vedlo k navýšení aktivity. Jistou roli zde mohl sehrát i již zmíněný dvojitý záchyt, jestliže neutronový tok alespoň na chvíli přesáhl hodnotu $10^{14} \text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Tyto údaje odpovídají produkční rychlosti $2,56 \cdot 10^7$ Bq/s ($1,54 \cdot 10^9$ Bq/h) při daném neutronovém toku.

4.1.4. Kontrola spektrální radionuklidové čistoty

Ke kontrole radionuklidové čistoty jsem použil γ-spektrum ozářeného lutecia. Spektrum bylo měřeno v lineární geometrii 320 cm, čas měření byl 1 hodina (3600 s.)

V γ -spektru jasně převažovaly fotopíky příslušející ^{177}Lu : 72, 113, 208, 250, 321 keV, dalšími registrovanými radionuklidy byly součásti přirozených rozpadových řad a záření nuklidu ^{40}K , což bylo ještě ověřeno druhým měřením při mnohem bližší, blíže nespecifikované geometrii (vzdálenost od detektoru byla volena tak, aby získaný signál měl maximální hodnotu a právě ještě nedocházelo k jeho zasycení). Dalšími výraznými liniemi byly energie 54,4 keV a 55,7 keV v oblasti nízkých energií příslušející patrně K_α a K_β čarám lutecia. Žádné jiné fotopíky se ve spektru neobjevily, ostatně je krajně nepravděpodobné, že se po několika dnech od konce aktivace ve spektru objevily také píky příslušející $^{177\text{m}}\text{Lu}$, tedy energie γ -fotonů 128, 153, 228, 378, 414, 418 keV, nebo dokonce $^{176\text{m}}\text{Lu}$ o energii γ -fotonů 88 keV, jehož aktivita je o několik řádů menší, nehledě k jeho výrazně delšímu (několikadennímu) poločasu a délce měření. Žádné údaje v literatuře tomu ostatně nenasvědčují.



Obr.3:Gama spektrum lutecia 177

Izotop	Energie gama fotonů ve spektru (keV)											
$^{176\text{m}}\text{Lu}$		88										
^{177}Lu	72		113			208		250	321			
$^{177\text{m}}\text{Lu}$				128	153		228			378	414	418

Tabulka 15.

4.1.5 Kontrola radionuklidové čistoty podle rozpadové křivky

Hodnoty pro sestrojení rozpadové křivky byly sbírány již od třetího dne po aktivaci. Všechny hodnoty nebyly měřeny v pravidelných časových intervalech, což bylo při výpočtech zohledněno. Ze získaných hodnot byl sestrojen graf.

Datum měření	Čas měření	Aktivita ampule číslo [MBq]			Průměrná aktivita [MBq]	Aktivita vypočtená teoreticky [MBq]			Rozdíl teorie a měření [MBq]	Rozdíl teorie a měření [%]
		I	II	III		^{177}Lu	$^{177\text{m}}\text{Lu}$	Celkem		
30.3.2004	8:30	84,1	84,0	84,4	84,2	83,96	0,0152	83,9752	-0,243	0,289
31.3.2004	1:30	74,7	74,7	74,5	74,6	74,75	0,0151	74,7651	0,1651	0,221
2.4.2004	15:20	55,5	56,1	57,8	56,5	59,80	0,0149	59,8149	0,0149	0,025
5.4.2004	0:54	42,9	43,3	48,3	44,8	44,71	0,0148	44,7248	-0,0752	0,016
6.4.2004	9:00	38,6	39,7	40,2	39,5	40,65	0,0147	40,6647	-1,1647	2,496
7.4.2004	10:50	36,4	37,1	38,7	37,4	36,37	0,0146	36,3846	1,020	2,030
7.4.2004	16:50	37,2	34,8	34,5	35,5	35,45	0,0144	35,4644	0,035	0,100
12.4.2004	9:30	4,0	23,3	23,5	23,6	24,20	0,0144	24,2144	-0,614	2,538
13.4.2004	9:35	22,0	22,0	21,7	21,9	21,82	0,0141	21,8341	0,066	0,003
16.4.2004	10:00	15,0	15,6	15,9	15,5	15,98	0,0140	15,994	-0,494	0,316
19.4.2004	9:30	11,4	10,5	13,2	11,7	11,74	0,0136	11,7536	-0,051	0,454
24.4.2004	10:31	6,1	5,9	6,2	6,1	6,97	0,0135	6,9835	-0,8835	1,265
27.4.2004	1:00	3,9	5,3	5,5	4,9	5,11	0,0135	5,1235	-0,210	4,099
5.5.2004	1:00	2,3	1,8	2,2	2,1	2,23	0,0130	2,243	-0,143	6,367

Tabulka 16.

4.2. Metoda chromatografie na tenké vrstvě

Metoda byla použita ve všech případech k určení výtěžku tvorby komplexů lutecia ^{177}Lu . Složení vyvíjecí soustavy nebylo jednotné, aktuální složení směsi je vždy uvedeno pro každé stanovení. Byly použity desky firmy ITLC-SA firmy Gelman, TLC silikagel Merk a chromatografický papír Whatman 1. Chromatogram byl analyzován pomocí skeneru firmy Raytest vybaveného detektorem záření beta.

Výtěžek tvorby komplexu se pak stanovoval jako podíl plochy píku komplexu lutecia ^{177}Lu a součtu ploch všech píků nalezených na chromatogramu. Výsledek byl vždy vyjádřen v procentech.

$$\text{Výtěžek tvorby komplexu} = \frac{A_k}{\sum_i A_i} * 100 [\%], \quad 6.$$

kde

A_k je plocha píku komplexu ^{177}Lu

A_i je plocha jednotlivých píků nalezených na chromatogramu

4.3. Měření aktivity lutecia ^{177}Lu v chromatogramech

Protože procentuální zastoupení gama záření z celkové aktivity lutecia 177 je malé (celkem jen 17,4%), provádíme proměřování chromatogramů měřením jejich aktivity beta. Podmínky pro měření beta aktivity ^{177}Lu (přístrojem MINIGITA) jsem zvolil tak, aby pík po změření chromatogramu, na němž je nanesen pouze zásobní roztok $^{177}\text{Lu}(\text{NO}_3)_3$ ležel v určité oblasti diskriminačního napětí. Bohužel v době, kdy jsem měřil většinu chromatogramů poklesla objemová aktivita pipetovaná na start již na takovou míru, že jsem byl nucen úplně otevřít „okno“ energie detekovaného záření pro získání co největší odezvy zařízení. Takto jsem měřil všechny chromatogramy s izotopem ^{177}Lu .

Tyto kroky jsem provedl se všemi komplexotvornými činidly, to je s diethylentetraamin pentaacetátem (DTPA), 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-N,N',N'',N'''-tetraoctovou kyselinou (DOTA) a ethylendiamin-N,N,N,N tetrakismethylen fosfonovou kyselinou (EDTMP).

Na chromatografické destičky jsem nanášel vždy 5 μ l sledované směsi. Vyhíjení chromatogramu probíhalo v chromatografické cele řádně nasycené parami mobilní fáze (asi 1 hod. před začátkem separace).

4.4. Vlastní syntéza komplexů

Všechny tyto kroky jsem provedl se všemi třemi komplexotvornými činidly, to je s diethylentetraamin pentaacetátem (DTPA), ethylendiamin-N,N,N,N tetrakismethylen fosfonovou kyselinou (EDTMP) a 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-N,N',N'',N'''-tetraoctovou kyselinou (DOTA).

Syntézu vlastního komplexu jsem prováděl vždy před jeho použitím. Složení reakční směsi jsem měnil podle sledovaného parametru (závislost na pH, na poměru kov: činidlo) a postup přípravy jednotlivých roztoků je vždy uveden v tabulce u každého prováděného kroku. Hodnotu pH jsem upravil ve všech případech na žádanou hodnotu přídavkem potřebného množství roztoku kyseliny dusičné nebo hydroxidu sodného vždy o koncentraci 0,1 mol/l. Reakční směsi jsem ve všech případech ponechal po úpravě pH stát 30 minut.

4.5. Nalezení optimálních chromatografických systémů

Pro nalezení vhodného chromatografického systému pro komplexy lutecia s jednotlivými činidly jsem použil pro systém Lu:DOTA vzorek o poměru Lu:DOTA 1:2

a pH 7 (byl s úspěchem použit při in vitro i in vivo studiích (viz (7)), pro systém Lu:DTPA vzorek o poměru Lu:DTPA 1:2,2 a pH 7 (7) a pro systém Lu:EDTMP vzorek o poměru Lu:EDTMP 1:20 a pH 8-9 (s úspěchem použil Sola a Arguelles, opět jak při in vitro i in vivo studiích (2)). Pro přehlednost údaje o těchto systémech „první volby“ uvedeny v tabulce:

Sledovaný systém	Mobilní fáze	Vzorek	Poznámka
Lu: DTPA	Hydroxylamin/ methanol/voda 0,2 : 2 : 4	Lu(NO ₃) ₃ : DTPA 1:2,2 pH 7	Velmi ostré dobře oddělené píky, R _f Lu(NO ₃) ₃ =0 R _f Lu- DTPA = 0,9-1
Lu: EDTMP	Voda (100%)	Lu(NO ₃) ₃ :EDTMP 1:20 pH 8-9	Velmi ostré dobře oddělené píky, R _f Lu(NO ₃) ₃ =0 R _f Lu- DTPA = 0,9-1
Lu: DOTA	Hydroxylamin/ methanol/voda 0,2 : 2 : 4	Lu(NO ₃) ₃ :DOTA 1 : 2 pH= 7	Velmi ostré dobře oddělené píky, R _f Lu(NO ₃) ₃ =0 R _f Lu-DOTA = 0,9-1

Tabulka 17.

Na chromatografické destičky jsem nanášel vždy 5 µl sledované směsi asi 1 cm od kraje (hladina mobilní fáze v chromatografické cele byla asi 0,5 cm). Vyhýjení chromatogramu probíhalo v chromatografické cele řádně nasycené parami mobilní fáze (asi 15 min. před začátkem separace), doba separace závisela na rychlosti putování čela chromatogramu (nejrychleji probíhala separace s fyziologickým roztokem, nejpomaleji s pyridinovou mobilní fází). Jakmile čelo chromatogramu dosáhlo téměř jeho konce, destičku jsem vyjmul, označil polohu čela (pro pozdější určení R_f) a vysušil proudem horkého vzduchu.

Proměřování chromatogramů měřením jejich beta aktivity přístrojem MINIGITA jsem již popsal výše.

Volbu vhodného chromatografického systému, ve kterém dochází k separaci komplexu od ostatních anorganických sloučenin lutecia jsem prováděl hledáním v literatuře, vodítkem mi byly také údaje týkající se TLC komplexů holmia s uvedenými komplexotvornými činidly. Dalším vodítkem mi bylo vybavení laboratoře, respektive již připravené mobilní fáze, které se osvědčily při dělení komplexů jiných kovů vzácných zemin, při kterých bylo také použito tenkovrstvé chromatografie (TLC).

Jako pevné fáze jsem používal neutrální silikagel na plastové folii a chromatografický papír Whatman 1

Jako mobilní fáze jsem testoval různé kombinace s vodou se mísících rozpouštědel a vodné fáze různého složení. Obecně lze říci, že mobilní fáze založené výhradně, nebo téměř výhradně na vodě fungují nejlépe a to jak při separacích LuEDTMP na papíře i silikagelu, tak i při separacích LuDTPA také papírovou chromatografií. Pro oba komplexy se nejlépe osvědčila mobilní fáze s co nejnižším obsahem rozpuštěných látek (pro LuEDTMP to byl fyziologický roztok (0,9 % NaCl), pro LuDTPA to byl systém pyridin/ethanol/voda. Pro LuEDTMP dával také slušné výsledky systém NH₃/EtOH/H₂O, páky však byly širší a celkový dojem poněkud horší než u fyziologického roztoku. Systémy ve kterých je obsažena kyselina octová, její soli a pufrační systémy na této bázi nikdy nevedly k uspokojivým výsledkům. Docházelo sice k separaci komplexu od ostatních anorganických sloučenin lutecia, páky však byly rozmyté a oproti jiným systémům se objevovalo zpravidla ještě několik (2-3) maxim příslušejících patrně směsným komplexům lutecia s různým obsahem acetátového ligandu. Díky údajům v literatuře se mimořádně slabným jeví systém hydroxyl amin/methanol/voda v poměrech 0,2 : 2 : 4, což se také nakonec potvrdilo.

4.5.1. Chromatografický systém lutecium-DTPA

Pro chromatografický systém, ve kterém dochází k separaci komplexu lutecium-DTPA od ostatních anorganických sloučenin lutecia, tj. hlavně nezreagovaného Lu(NO₃)₃ a produktů jeho hydrolýzy jsem vyzkoušel tyto kombinace pevné a mobilní fáze:

Pevná fáze	Mobilní fáze	Vzorek	Výsledek
TLC silika gel	Hydroxylamin/methanol/voda 0,2 : 2 : 4	Lu(NO ₃) ₃ : DTPA 1:2 pH= 7 reakční doba 30 minut	Velmi ostré, dobře oddělené píky, R_f Lu(NO ₃) ₃ =0 R_f Lu- DTPA = 0,9-1
Whatman No.1	10%octan sodný/metanol 1 : 1	Lu(NO ₃) ₃ : DTPA 1:2 pH= 7 reakční doba 30 minut	Nepříliž ostré rozmyté píky, R_f Lu(NO ₃) ₃ =0 R_f Lu- DTPA = 0,9-1
TLC silika gel	MeOH/H ₂ O/CH ₃ COOH 49 : 49 : 2	Lu(NO ₃) ₃ : DTPA 1:5 pH=1,1 reakční doba 1 hodina	Nepříliž ostré rozmyté píky, R_f Ho(NO ₃) ₃ =0,16 R_f Ho-DTPA=0,9-1,0
Whatman No.1	Fyziologický roztok (0,9 % NaCl)	Lu(NO ₃) ₃ : DTPA 2:1 pH=6,1 reakční doba 1 hodina	Velmi ostré dobře oddělené píky, R_f HoCl ₃ =0,1 R_f Ho-DTPA=0,9-1,0

Tabulka 18.

4.5.2. Chromatografický systém lutecium-DOTA

Pro chromatografický systém, ve kterém dochází k separaci komplexu lutecium-DOTA od ostatních anorganických sloučenin lutecia, tj. hlavně nezreagovaného Lu(NO₃)₃ a produktů jeho hydrolyzy jsem vyzkoušel tyto kombinace pevné a mobilní fáze:

Pevná fáze	Mobilní fáze	Vzorek	Výsledek
Gelman ITLC-SG	Voda (100%)	Lu(NO ₃) ₃ : DOTA 1:2 pH = 8-9 reakční doba 30 minut	Píky dobře oddělené, R_f Lu(NO ₃) ₃ = 0 R_f Lu-DOTA = 0,9-1
Gelman ITLC-SG	Fyziologický roztok (0,9 % NaCl)	Lu(NO ₃) ₃ : DOTA 1:2 pH = 8-9 reakční doba 30 minut	Oddělené píky, R_f Lu(NO ₃) ₃ = 0-0,1 R_f Lu-DOTA = 0,8-1
Whatman No.1	NH ₃ /EtOH/H ₂ O 1 : 10 : 20	Lu(NO ₃) ₃ : DOTA 1:2 pH = 8-9 reakční doba 30 minut	Velmi ostrý, dobře oddělený pík Lu-DOTA, rozmytý pík Lu(NO ₃) ₃ R_f Lu(NO ₃) ₃ = 0 R_f Lu-DOTA = 0,9-1
Whatman No.1	Hydroxyl amin/methanol/voda 0,2 : 2 : 4	Lu(NO ₃) ₃ : DOTA 1:2 pH = 7 reakční doba 30 minut	Velmi ostré dobře oddělené píky, R_f Lu(NO ₃) ₃ = 0 R_f Lu-DOTA = 0,9-1

Tabulka 19.

4.5.3. Chromatografický systém lutečium-EDTMP

Nalezení chromatografického systému, ve kterém dochází k separaci komplexu lutečium-EDTMP od ostatních anorganických sloučenin lutecia, tj. hlavně nezreagovaného Lu(NO₃)₃ a produktů jeho hydrolyzy patřilo k nej obtížnějším částem celé práce. Pravděpodobně díky vysoké rozpustnosti komplexu Lu-EDTMP buď většinou obě látky zůstávaly na startu (příliš hydrofobní soustavy), nebo obě putovaly s čelem mobilní fáze. Postupně jsem vyzkoušel tyto kombinace pevné a mobilní fáze:

Pevná fáze	Mobilní fáze	Vzorek	Výsledek
Gelman ITLC-SG	Voda (100%)	Lu(NO ₃) ₃ : EDTMP 1: 20 pH=8-9 reakční doba 30 minut	Ostré dobré oddělené píky,vysoký šum R_f Lu(NO ₃) ₃ =0 R_f Lu-EDTMP= 0,9-1
Gelman ITLC-SG	Fyziologický roztok (0,9 % NaCl)	Lu(NO ₃) ₃ : EDTMP 1: 20 pH=8-9 reakční doba 30 minut	Ostré dobré oddělené píky,téměř jako s vodou R_f Lu(NO ₃) ₃ =0 R_f Lu-EDTMP= 0,9-1
Whatman 1	NH ₃ /EtOH/H ₂ O 1 : 10 : 20	Lu(NO ₃) ₃ : EDTMP 1: 20 pH=8-9 reakční doba 30 minut	Velmi ostrý dobré oddělený pík Lu-EDTMP, rozmytý pík Lu(NO ₃) ₃ R_f Lu(NO ₃) ₃ =0 R_f Lu-EDTMP= 0,9-1
Whatman 1	Hydroxyl amin/methanol/v oda 0,2 : 2 : 4	Lu(NO ₃) ₃ :EDTMP 1 : 2 pH= 7 reakční doba 30 minut	Velmi ostré dobré oddělené píky, R_f Lu(NO ₃) ₃ =0 R_f Lu-DOTA= 0,9-1
TLC silica gel	Hydroxyl amin/methanol/ voda 0,2 : 2 : 4	Lu(NO ₃) ₃ : EDTMP 1 : 2 pH = 7 reakční doba 30 minut	Velmi ostré dobré oddělené píky, R_f Lu(NO ₃) ₃ =0 R_f Lu- DTPA = 0,9-1
Whatman 1	10 % octan sodný/metanol 1 : 1	Lu(NO ₃) ₃ : EDTMP 1:2 pH = 7 reakční doba 30 minut	Nepříliž ostré rozmyté píky, R_f Lu(NO ₃) ₃ = 0 R_f Lu- DTPA = 0,9-1,0
TLC silica gel	MeOH/H ₂ O/CH ₃ COOH 49 : 49 : 2	Lu(NO ₃) ₃ : EDTMP 1:5 pH = 7 reakční doba 1 hodina	Nepříliž ostré rozmyté píky,vysoký šum, R_f Lu(NO ₃) ₃ = 0,2, R_f Lu-DTPA = 0,9-1,0
Whatman No 1	Fyziologický roztok (0,9 % NaCl)	Lu(NO ₃) ₃ : EDTMP 2:1 pH=6,1 reakční doba 1 hodina	Ostré dobré oddělené píky, R_f Lu(NO ₃) ₃ = 0,2 R_f Lu-EDTMP = 0,9-1,0

Tabulka 20.

4.6 Vliv pH na výtěžek komplexace

Ad 3) Dále jsem prováděl testování závislosti výtěžku komplexace na pH. Stanovení jsem prováděl při stejném poměru kov:ligand jako v předešlých případech. Hodnotu pH jsem upravil ve všech případech na žádanou hodnotu přídavkem potřebného množství roztoku kyseliny dusičné nebo hydroxidu sodného vždy o koncentraci 0,1 mol/l. Ke všem stanovením jsem použil vždy stejný objem $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3$, aby i použitá aktivita na každém chromatogramu byla stejná a výsledky bylo možno snáze porovnat. Měření pH jsem prováděl na pH metru WTW pH 538 s kombinovanou elektrodou Hamilton minitrode. Ke kalibraci pH metru jsem použil roztoky hydrogenvínantu draselného o pH=3,557 a tetraboritanu sodného o pH=9,180 (celý komplet je ve vybavení laboratoře, kalibraci jsem prováděl pouze jednou). Ke všem stanovením jsem použil vždy stejný objem $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3$, aby i použitá aktivita na každém chromatogramu byla stejná a výsledky bylo možno snáze porovnat.

pH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Vzorek [μl]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
0,1M HNO_3 [μl]	990	540	475	490	490	490	490	490	490	490	465	440
0,1M NaOH [μl]	0	450	475	500	500	500	500	500	500	500	485	550

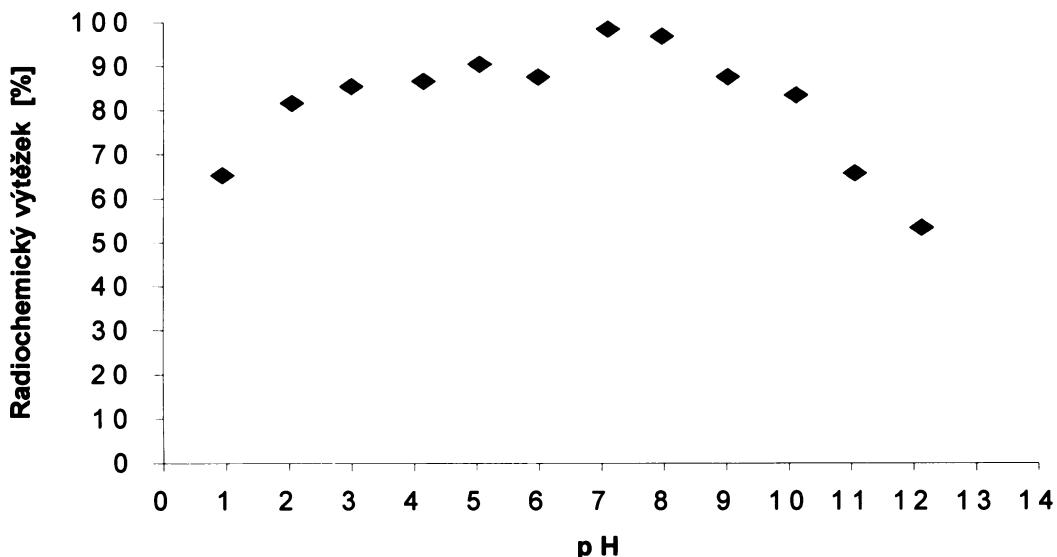
Tabulka 21.

4.6.1. Chromatografický systém lutecium-DTPA

Stanovení jsem prováděl při stejném poměru kov:ligand, tj. lutecium-DTPA 1:2. Po náležitém vyhodnocení všech chromatogramů jsem získal následující výsledky uvedené v tabulce. Ze získaných výsledků jsem také sestavil graf závislosti radiochemického výtěžku na pH reakční směsi.

pH	Radiochemický výtěžek [%]
0,94	65,3
2,05	81,6
2,99	85,4
4,15	86,6
5,04	90,4
5,98	87,5
7,10	98,4
7,96	96,8
9,02	87,5
10,11	83,4
11,05	55,7
12,12	53,4

Tabulka 22.



Obr.4:graf závislosti radiochemického výtěžku na pH reakční směsi lutecium-DTPA.

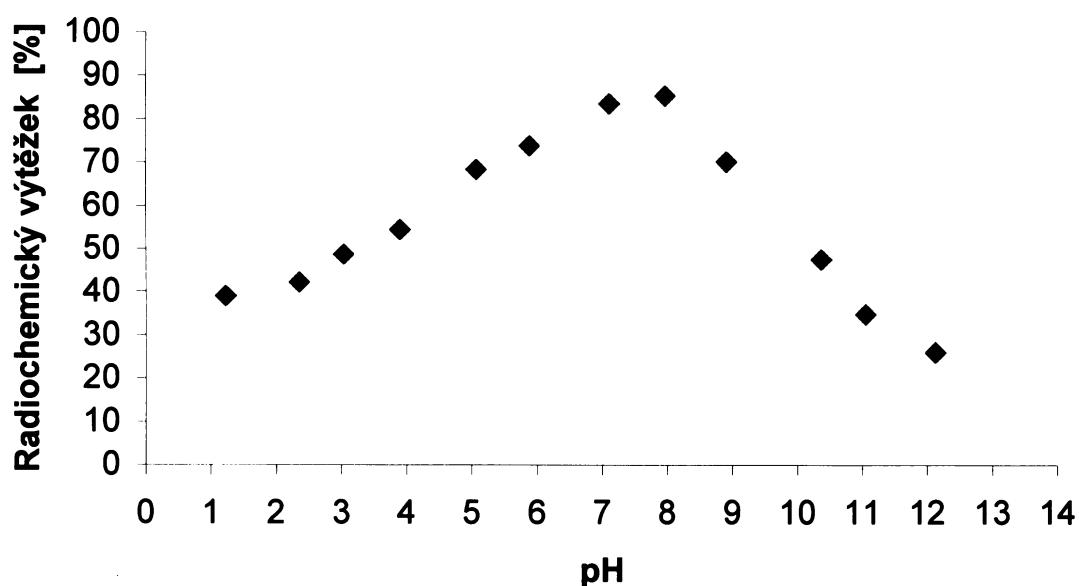
4.6.2. Chromatografický systém lutecium-DOTA

Ad 3) Další mnou naplánovanou úlohu, tj. testování závislosti výtěžku komplexace na pH jsem prováděl téměř identickým způsobem jako s DTPA. Toto stanovení jsem prováděl při poměru kov:ligand tj. lutecium- DOTA 1:2 .Hodnotu pH jsem upravil ve všech případech na žádanou hodnotu přídavkem potřebného množství roztoku kyseliny dusičné nebo hydroxidu sodného vždy o koncentraci 0,1 mol/l. Měření pH jsem prováděl stejně jako v předešlém případě. Ke všem stanovením jsem použil vždy stejný objem $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3$, aby i použitá aktivita na každém chromatogramu byla stejná a výsledky bylo možno snáze porovnat.

Po náležitém vyhodnocení všech chromatogramů jsem získal následující výsledky uvedené v další tabulce. Ze získaných výsledků jsem také sestavil graf závislosti radiochemického výtěžku na pH reakční směsi.

pH	Radiochemický výtěžek [%]
1,22	39,05
2,35	42,18
3,03	48,73
3,89	54,38
5,06	68,46
5,88	73,91
7,10	83,59
7,96	85,36
8,90	70,15
10,36	47,49
11,05	34,73
12,12	26,06

Tabulka 23.



Obr.5:Graf závislosti radiochemického výtěžku na pH reakční směsi
Lutecium-DOTA.

4.6.3. Chromatografický systém lutecium-EDTMP

Ad 3) Jako i s jinými činidly, i s EDTMP jsem prováděl testování závislosti výtěžku komplexace na pH. Stanovení jsem prováděl při stejném poměru kov:ligand jako v bodě jedna tj. lutecium-EDTMP 1:20 Hodnotu pH jsem upravil ve všech případech na žádanou hodnotu přídavkem potřebného množství roztoku kyseliny dusičné nebo hydroxidu sodného vždy o koncentraci 0,1 mol/l a měření pH jsem prováděl stejně jako v předchozích případech.

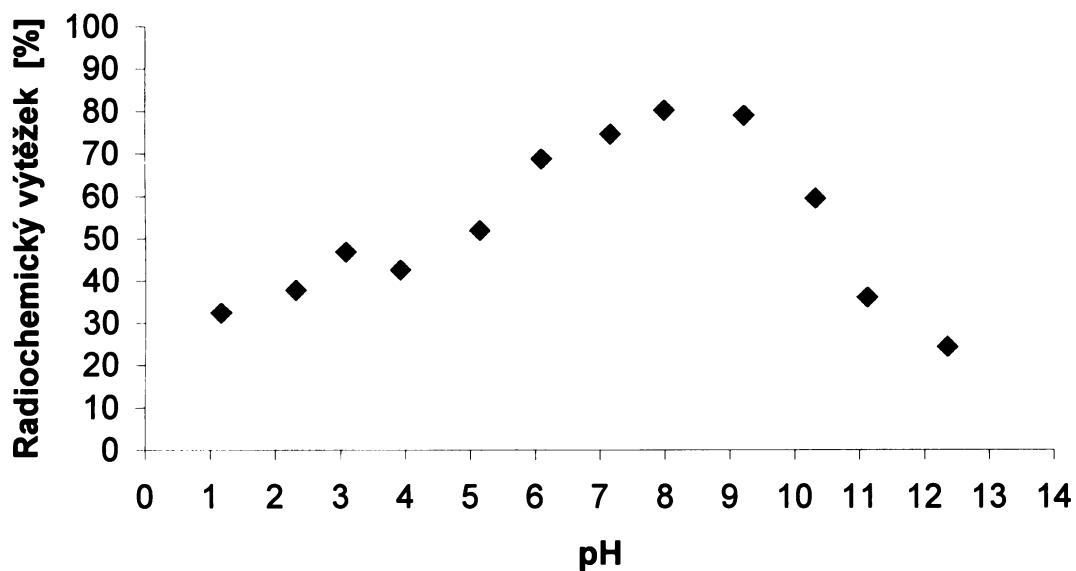
Ke všem stanovením jsem použil vždy stejný objem Lu(NO₃)₃, aby i použitá aktivita na každém chromatogramu byla stejná a výsledky bylo možno snáze porovnat.

Po náležitém vyhodnocení všech chromatogramů jsem získal následující výsledky uvedené v další tabulce:

pH	Radiochemický výtěžek [%]
1,16	32,42
2,31	37,78
3,08	46,82
3,92	42,56
5,14	51,91
6,09	68,67
7,15	74,54
7,98	80,12
9,21	78,82
10,32	59,44
11,12	35,99
12,36	24,29

Tabulka 24.

Ze získaných výsledků jsem také sestavil graf závislosti radiochemického výtěžku na pH reakční směsi:



Obr.6:Graf závislosti radiochemického výtěžku na pH reakční směsi lutecium-EDTMP.

4.7. Vliv koncentrace ligandu

Ad 4) Dalším sledovaným parametrem, který ovlivňuje výtěžek reakce je vliv koncentrace příslušného ligandu. Nejvhodnější hodnoty pH pro reakci s použitým činidlem jsem získal z předchozích stanovení. U všech roztoků jsem upravil pH stejným způsobem (0,1M HNO₃ a NaOH). Při takto vybraném optimálním pH jsem otestoval závislost výtěžku komplexace na poměru koncentrací kov : ligand: 1:1 , 1:10 , 1:50 , 1:100 , 1:500 , 1:1000 , 1:2500 , 1:5000 , 1:10000. Ke všem stanovením jsem opět použil vždy stejný objem Lu(NO₃)₃, aby i použitá aktivita na každém chromatogramu byla stejná a výsledky bylo možno snáze porovnat.

Zkumavka číslo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Lu:ligand	1:1	1:10	1:50	1:100	1:500	1:1000	1:2500	1:5000	1:10 ⁴
Vzorek [μl]	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Činidlo neředěné [μl]	10	100	500	1000	-	-	-	-	-
Činidlo 100×zřed.[μl]	-	-	-	-	50	100	250	500	1000
Voda k doplnění [μl]	990	900	500	0	50	900	750	500	0

Tabulka 25.

4.7.1. Chromatografický systém lutečium-DTPA

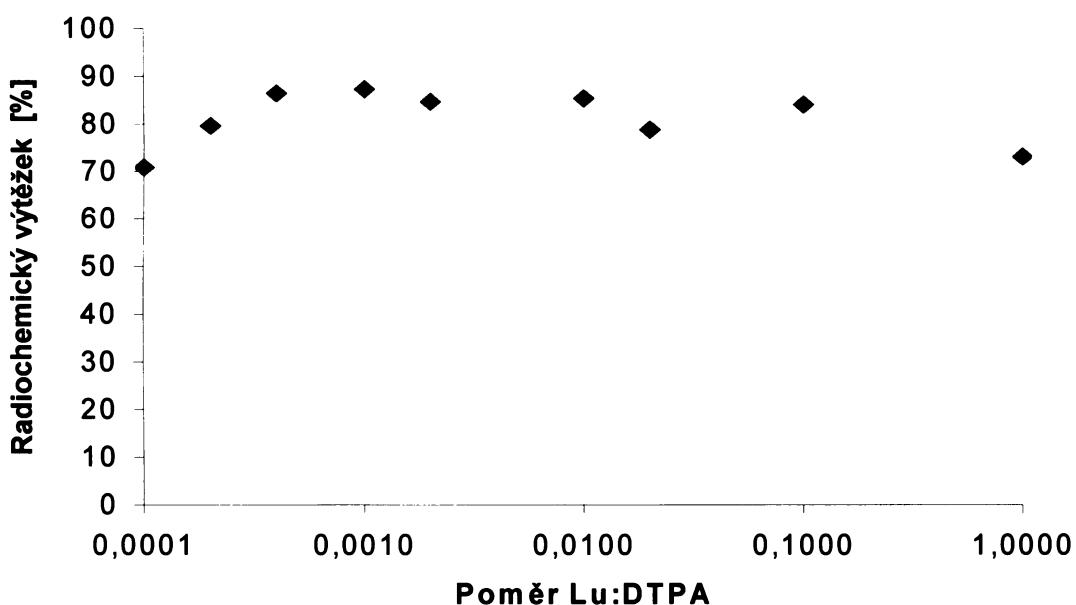
Pro sledování závislosti radiochemického výtěžku na poměru koncentrací kov : ligand v soustavě Lu-DOTA jsem nalezl optimální pH= 8. Přípravu roztoků jsem prováděl stejně jako v předchozím případě.

Naměřené výsledky uvádím v tabulce

Poměr Lu : ligand	Radiochemický výtěžek [%]
1:1	72,9
1:10	76,5
1:50	78,7
1:100	82,3
1:500	84,6
1:1000	87,3
1:2500	86,4
1:5000	79,6
1:10000	70,9

Tabulka 26.

I z těchto výsledků jsem sestavil graf závislosti radiochemického výtěžku na složení reakční směsi:



Obr.7:Graf závislosti radiochemického výtěžku na složení reakční směsi lutecium-DTPA.

4.7.2 Chromatografický systém lutecium-DOTA

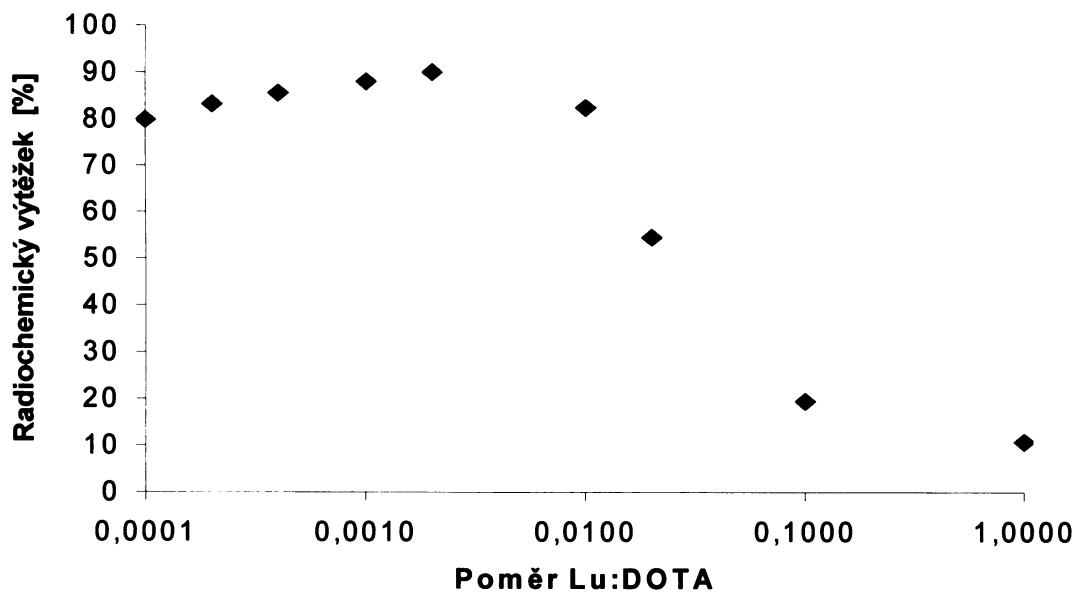
Pro sledování závislosti radiochemického výtěžku na poměru koncentrací kov : ligand v soustavě Lu-DOTA jsem nalezl optimální pH= 8. Přípravu roztoků jsem prováděl stejně jako v předchozím případě.

Naměřené výsledky uvádím v tabulce:

Poměr Lu : ligand	Radiochemický výtěžek [%]
1:1	10,77
1:10	19,43
1:50	54,53
1:100	82,37
1:500	89,96
1:1000	87,95
1:2500	85,54
1:5000	83,21
1:10000	79,83

Tabulka 27.

I z těchto výsledků jsem sestavil graf závislosti radiochemického výtěžku na složení reakční směsi:



Obr.8: Graf závislosti radiochemického výtěžku na složení reakční směsi lutecium-DOTA.

4.7.3. Chromatografický systém lutecium-EDTMP

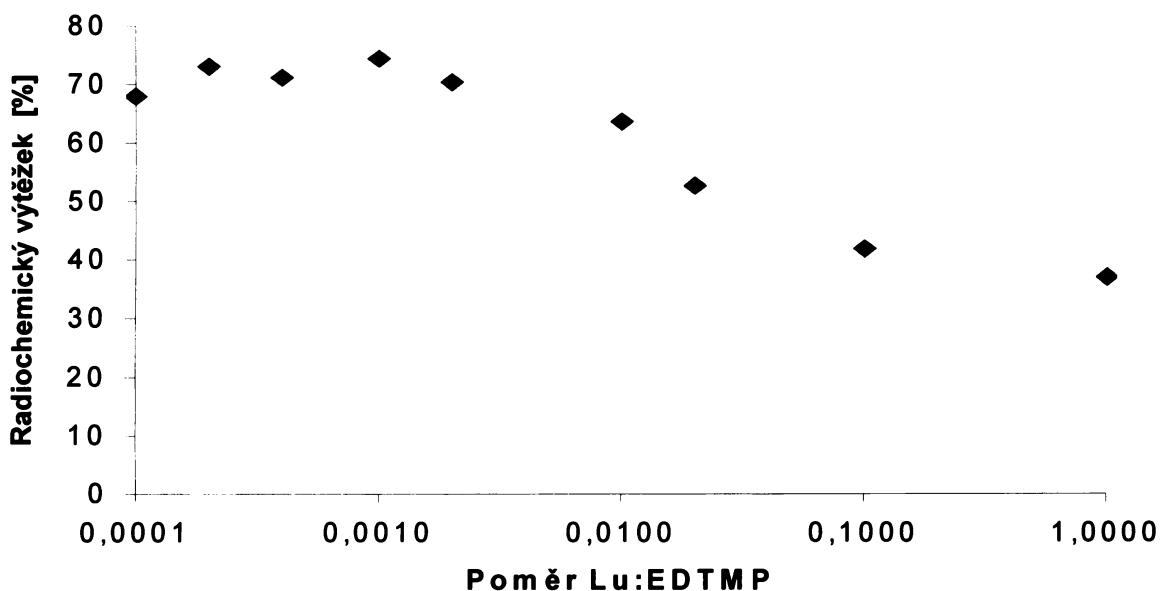
Pro sledování závislosti radiochemického výtěžku na poměru koncentrací kov : ligand v soustavě Lu-EDTMP jsem nalezl optimální pH= 8. Přípravu roztoků jsem prováděl stejně jako v předchozích případech.

Naměřené výsledky uvádím v tabulce:

Poměr Lu : ligand	Radiochemický výtěžek [%]
1:1	36,38
1:10	41,37
1:50	52,27
1:100	63,22
1:500	70,08
1:1000	74,16
1:2500	71,00
1:5000	72,94
1:10000	67,92

Tabulka 28.

I z těchto výsledků jsem sestavil graf závislosti radiochemického výtěžku na složení reakční směsi:



Obr.9: Graf závislosti radiochemického výtěžku na složení reakční směsi lutecium-EDTMP.

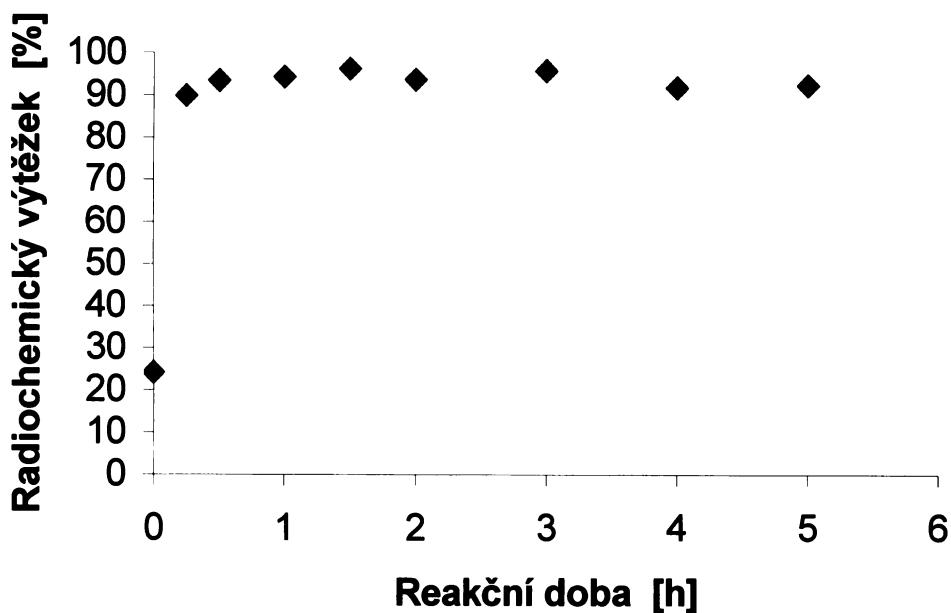
4.8. Vliv reakčního času na výtěžek komplexace

Ad 5) Posledním mnou sledovaným parametrem byl vliv reakčního času na radiochemický výtěžek komplexace. K testování jsem používal stejný vzorek o optimálním poměru koncentrací kov : ligand a pH jako v předešlém případě a to vždy pro každé komplexotvorné činidlo. Sledoval jsem časovou závislost výtěžku komplexace iontových forem lutecia v rozmezí 15 minut až 5 hodin v intervalech 15 , 30, 60 , 90 a 120 minut od přípravy a dále třikrát po jedné hodině od přípravy komplexu (tj. od smísení komponent). Na základě takto získaných údajů bude možné říci, do jaké doby od přípravy je studovaný preparát (klinicky) použitelný.

4.8.1. Chromatografický systém lutecium-DTPA

Reakční doba [h]	Radiochemický výtěžek [%]
0	24,27
0,25	89,92
0,5	93,45
1	94,28
1,5	96,25
2	93,66
3	95,76
4	91,77
5	92,36

Tabulka 29.

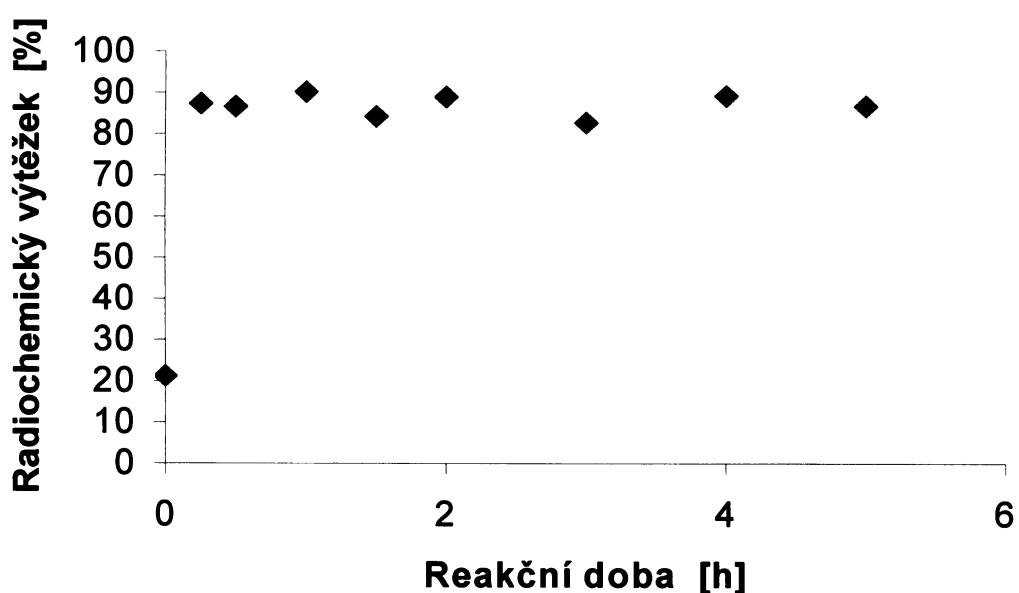


Obr.10: Graf závislosti vlivu reakčního času na radiochemický výtěžek komplexace reakční směsi lutecium-DTPA.

4.8.2. Chromatografický systém lutecium-DOTA

Reakční doba [h]	Radiochemický výtěžek [%]
0	21,16
0,25	87,34
0,5	86,55
1	90,11
1,5	84,21
2	88,92
3	82,69
4	89,08
5	86,57

Tabulka 30.

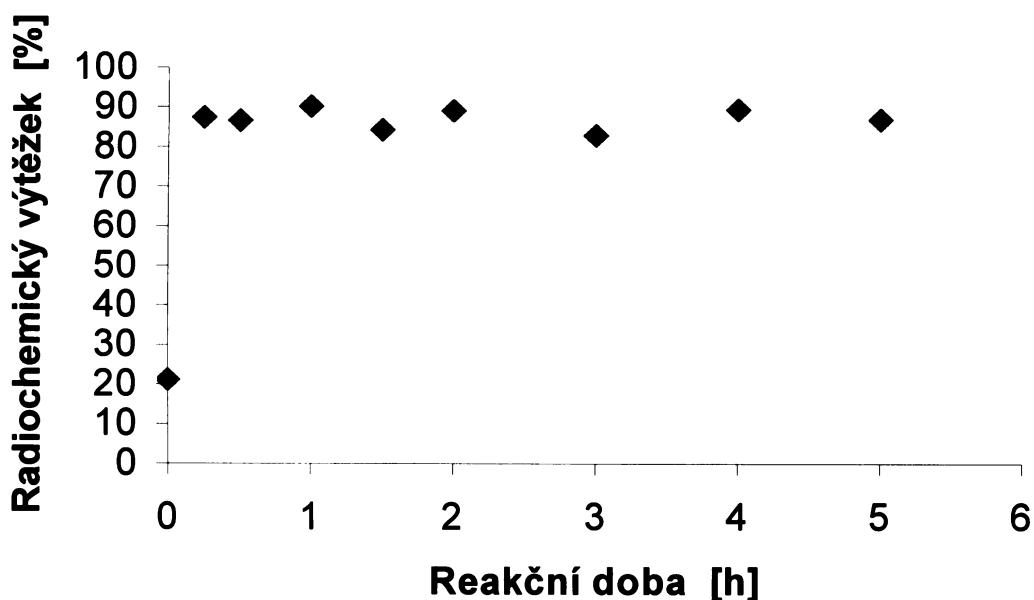


Obr.11:Graf závislosti vlivu reakčního času na radiochemický výtěžek komplexace reakční směsi lutecium-DOTA.

4.8.3. Chromatografický systém lutecium-EDTMP

Reakční doba [h]	Radiochemický výtěžek [%]
0	28,36
0,25	75,53
0,5	74,21
1	76,84
1,5	73,92
2	78,45
3	81,26
4	78,96
5	75,15

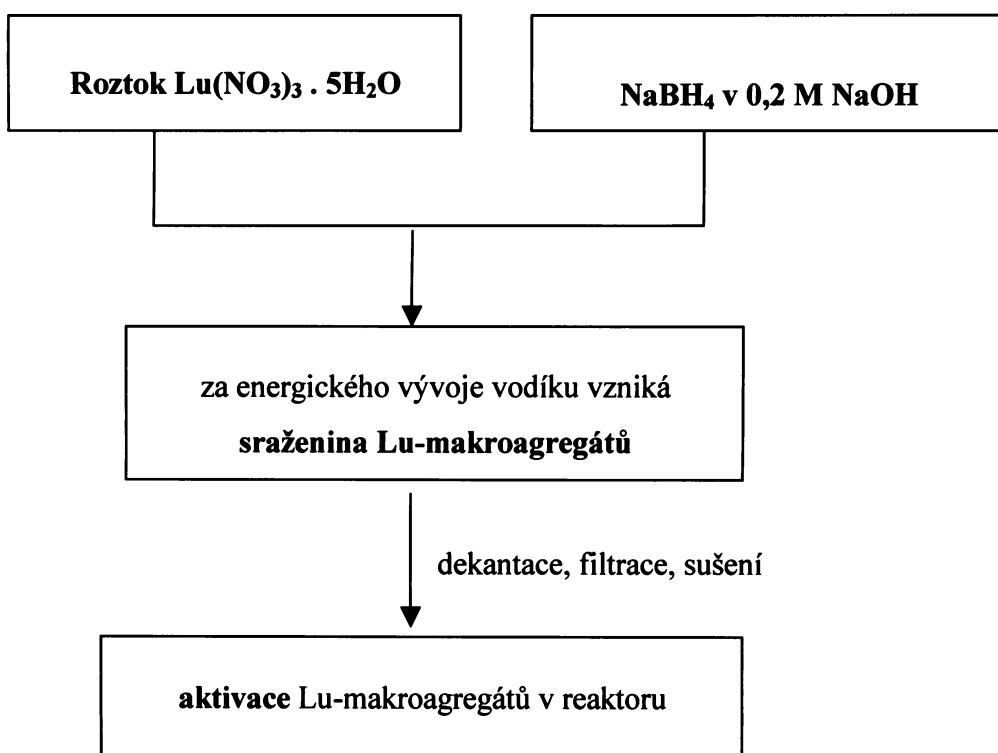
Tabulka 31.



Obr.12: Graf závislosti vlivu reakčního času na radiochemický výtěžek komplexace reakční směsi lutecium-EDMTP.

5.1. Příprava boromakroagregátů značených luteciem ^{177}Lu

Pro studium fyzikálně chemických vlastností ^{177}Lu -BMA byly připraveny dvě nezávislé šarže preparátu. Šarže č. 1 i 2 byly připraveny identickým způsobem se stejným množstvím molárního nadbytku reagujícího tetrahydridoboritanu sodného. Způsob přípravy je schématicky znázorněn na obrázku č. 5.



Obr.13: Schéma přípravy Lu-177 ve formě boromakroagregátů

Schéma převzato z(13)

Šarže č. 1 a č. 2 byly připraveny identicky následujícím způsobem. K experimentům byl použit dusičnan lutecity Lu(NO₃)₃ · 5H₂O, 99,99% čistoty od firmy Aldrich, jehož přesně odvážené množství bylo rozpuštěno v destilované vodě. Na každý 1 gram dusičnanu bylo použito 5 ml destilované vody. K roztoku byl opatrně přidáván

roztok tetrahydridoboritanu sodného o koncentraci 2,5 mol/l v hydroxidu sodném o koncentraci 0,2 mol/l. Vždy bylo přidáno 20 ml tohoto roztoku na 1 gram dusičnanu, tj. dvacetimolární nadbytek tetrahydridoboritanu. Po 24 hodinách byla suspenze zředěna destilovanou vodou na desetinásobek svého původního objemu. Vzniklé částice byly odcentrifugovány, promyty a centrifugovány s tolika přídavky 50 ml destilované vody až se pH supernatantu neměnilo. Výsledný preparát byl usušen při laboratorní teplotě.

5.2. Analýza distribuce velikosti částic

Distribuce velikosti částic byla taktéž zjišťována u vzorků obou šarží Lumboromakroagregátů

Analýza byla provedena v Ústavu jaderné fyziky AV ČR pomocí granulometru s laserovou difrakcí CILAS model 1064 Liquid. Tento model má měřící rozsah od 0,04 do 500 μm . Výsledky jsou prezentovány ve formě distribučních $Q(x)$ a frekvenčních $q(x)$ křivek, kde proměnná x znamená velikost částic.

Stanovení probíhalo ve vodné suspenzi. Vzorky byly před měřením rozptýleny v destilované vodě a umístěny do ultrazvukové lázně. Doba působení ultrazvuku byla nastavena pomocí spínacích hodin pro všechny vzorky shodně 5 minut.

V tabulkách jsou výsledky reprezentovány hodnotami $D_{\text{střední}}$, D_{10} , D_{50} a D_{90} . Tyto hodnoty jsou odečteny z distribuční křivky a vyjadřují střední velikost částic a dále pak velikost částic tvořících 10%, 50% a 90% z celého spektra velikosti částic.

Velikost částic [μm]	Vzorek Lu-BMA č.1	Vzorek Lu-BMA č.2
$D_{\text{střední}}$	2,34	2,36
D_{10}	1,71	1,71
D_{50}	4,78	4,72
D_{90}	9,74	9,74

Tabulka 32.

5.3. Analýza stability in-vitro

Jelikož předpokládanou formou pro aplikaci Lu-boromakroagregátů je injekční suspenze, byla stabilita in-vitro posuzována z hlediska úniku radioaktivity z pevné fáze do fáze kapalné. Experimenty byly proto dělány následujícím způsobem. Vzorky po ozáření v reaktoru byly dispergovány v 6 ml destilované vody, měření byla prováděna při pokojové teplotě. V určitých časových intervalech byl vždy odebrán aliquot 4 ml čirého roztoku po předchozí 2-minutové centrifugaci suspenze při 2000 otáčkách za minutu. Stabilita pak byla dána množstvím vyloužené aktivity podle rovnice:

$$F(t) = \frac{\frac{6}{4} A_a(t)}{A_T(t)} 100 \text{ [%]}, \quad 7.$$

kde $F(t)$ je rozpuštěný podíl [%] daný množstvím vyloužené aktivity
 $A_a(t)$ je aktivita aliquotu v čase t
 $A_T(t)$ je celková aktivita v čase t

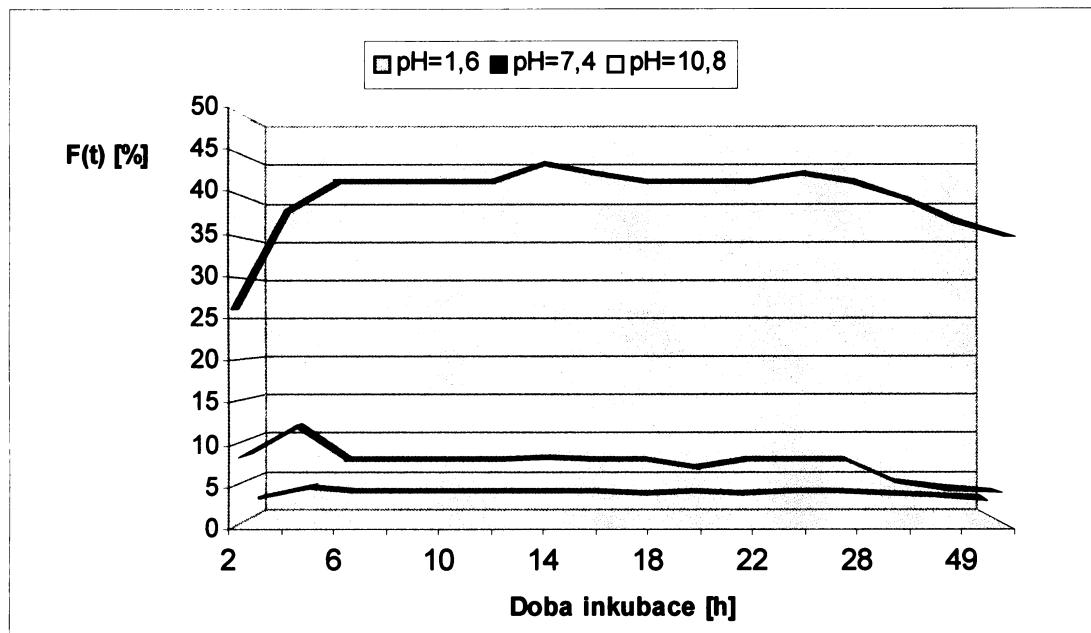
Po změření aktivity byl aliquot opět vrácen zpět a suspenze byla důkladně promíchána. Během celého experimentu tudíž nedocházelo ke změnám v objemu loužícího roztoku, které by mohly mít vliv na rozpouštění pevné fáze.

Toto měření bylo provedeno u obou mnou připravených šarží makroagregátů lutecia a to při třech různých hodnotách pH. Byla zvolena hodnota 7,4 jakožto hodnota blízká hodnotám fyziologickým a dále pro srovnání po jedné hodnotě z kyselé i zásadité oblasti. Všechny roztoky byly připraveny ze zásobních roztoků 1M HCl a 1M NaOH, nebyly nijak pufrovány a pH bylo kontrolováno potencimetrií.

Vzorek Lu-BMA č.1:

	Množství vyloužené aktivity[%]					
Inkubace[h]	2	4	6	28	49	170
PH=1,6	26,2	37,8	41,5	39,4	36,6	34,8
PH=7,4	8,2	11,7	7,6	4,7	3,9	3,6
PH=10,8	2,1	3,4	2,8	2,6	2,3	1,9

Tabulka 33.

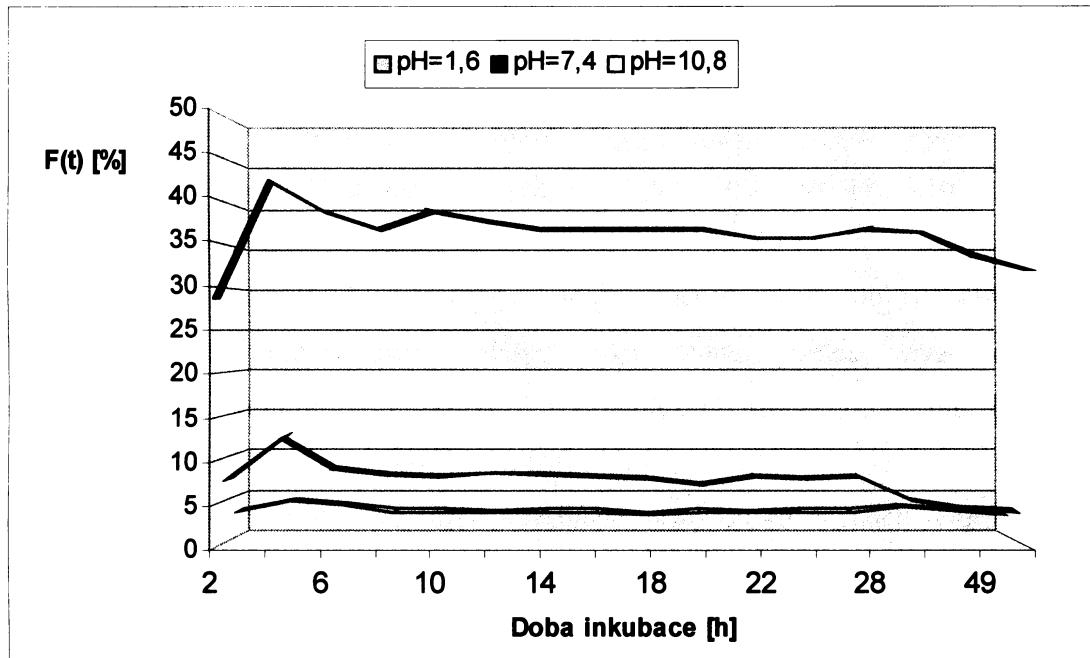


Obr.12.: Vliv pH nepufrujících roztoků na in-vivo stabilitu Lu-BMA č.1

Vzorek Lu-BMA č.2:

Inkubace[h]	Množství vyloužené aktivity[%]					
	2	4	6	28	49	170
PH=1,6	28,6	42,1	38,5	36,2	33,6	31,8
PH=7,4	7,4	12,2	8,5	4,9	3,8	3,5
PH=10,8	3,0	4,1	3,7	3,3	2,9	2,4

Tabulka 34.



Obr.13.: Vliv pH nepufrujících roztoků na in-vivo stabilitu Lu-BMA č.2

Jak je z obrázků patrné, v oblasti velmi nízkého pH došlo v prvních hodinách inkubace k prudkému nárůstu aktivity v aliquotu. Rozpuštěný podíl $F(t)$ dosáhl v případě vzorku šarže č.1 hodnoty skoro 42%, v případě vzorku č.2 téměř stejné hodnoty. Tyto hodnoty zůstaly prakticky po celou dobu měření konstantní, jejich případná oscilace je způsobena statistickou fluktuací. Odlišný průběh veličiny $F(t)$ lze pozorovat u vzorků inkubovaných při hodnotách pH 7,4 a 10,7. U těchto měření dosahuje rozpustný podíl $F(t)$ pod 10%, překračuje ji jen ve dvou případech a to vždy při pH 7,4 čtvrtou hodinu od počátku inkubace.

6. ZÁVĚR

Během předešlých experimentů byla jasně ověřena metoda přípravy lutecia 177 navrženou metodou, prokázána jeho totožnost i očekávaná radionuklidová čistota. Získané údaje odpovídají produkční rychlosti $2,56 \cdot 10^7$ Bq/s ($1,54 \cdot 10^9$ Bq/h) při předpokládaném neutronovém toku.

Byla také úspěšně provedena syntéza jeho komplexu se všemi činidly (EDTMP, DOTA a DTPA) a u všech komplexů nalezen alespoň jeden chromatografický systém, ve kterém dochází k separaci komplexu od ostatních anorganických sloučenin lutecia, tj. hlavně nezreagovaného Lu(NO₃)₃ a produktů jeho hydrolyzy.

Jako mobilní fáze jsem testoval různé kombinace s vodou se mísících rozpouštědel a vodné fáze různého složení. Obecně lze říci, že mobilní fáze založené výhradně, nebo téměř výhradně na vodě fungují nejlépe a to jak při separacích LuEDTMP na papíře i silikagelu, tak i při separacích LuDTPA také papírovou chromatografií. Pro oba komplexy se nejlépe osvědčila mobilní fáze s co nejnižším obsahem rozpuštěných látek (pro LuEDTMP to byl fyziologický roztok (0,9 % NaCl), pro LuDTPA to byl systém pyridin/ethanol/voda. Pro LuEDTMP dával také slušné výsledky systém NH₃/EtOH/H₂O, píky však byly širší a celkový dojem poněkud horší než u fyziologického roztoku. Systémy ve kterých je obsažena kyselina octová, její soli a pufrační systémy na této bázi nikdy nevedly k uspokojivým výsledkům. Docházelo sice k separaci komplexu od ostatních anorganických sloučenin lutecia, píky však byly rozmyté a oproti jiným systémům se objevovalo zpravidla ještě několik (2-3) maxim příslušejících patrně směsným komplexům lutecia s různým obsahem acetátového ligandu.

U takto připravených komplexů jsem provedl také testování závislosti výtěžku komplexace na pH. U všech komplexů byl také sledován vliv reakčního času na radiochemický výtěžek komplexace, studované sloučeniny se ukázaly byt stabilními alespoň po dobu pěti hodin.

Byla také úspěšně provedena příprava makroagregátů lutecia způsobem analogickým pro přípravu makroagregátů holmia. U připravených vzorků byla provedena elektronová mikroskopie a stanovena velikost částic granulometricky. Tyto makroagregáty byly s úspěchem aktivovány v jaderném reaktoru tepelnými neutrony a ověřena jejich stálost ve fyziologickém prostředí.

7. Bezpečnost práce a radiologická data:

Lutecium 177 je beta zářič s E_{\max} 497 keV (78,6%), 384 keV (9,1%), 176 keV (12,2%) doprovázeném zářením gama s energiemi 72 133 208 250 321 keV a poločasem rozpadu 6,72 dní.

Při práci s preparáty obsahujícími lutecium 177 je vždy bezpodmínečně nutné zabránit průniku těchto sloučenin do organizmu a to jakoukoliv možnou cestou (požitím, inhalací, poraněním a absorpcí přes kůži).

Všechny dále uvedené údaje jsou převzaty z (33).

Fyzikální data:

Druh a energie záření	Beta 490 keV Gama 72 133 208 250 321 keV	
Gama konstanta	$7,636 \cdot 10^{-6}$ mSv/h MBq 1m (0,028 mrem/h Ci 1m)	
Poločas[T _{1/2}]	Fyzikální[T _{1/2}] 6,72d Biologický[T _{1/2}] Trávicí trakt ~1d, Plíce~30d, Orgánový depozit~4r Efektivní[T _{1/2}] Trávicí trakt ~1d, Plíce~6d, Orgánový depozit~6,7r	
Specifická aktivita	$4,1 \cdot 10^{15}$ Bq/g(1.1·10 ⁵ Ci) max.	

Tabulka 35.

Radiologická data:

Radiotoxicita	$6,43 \cdot 10^{-9}$ Sv/Bq (2,38 mrem/ μ Ci) pro požité ^{177}Lu $3,33 \cdot 10^{-9}$ Sv/Bq (1,12 mrem/ μ Ci) pro vdechnuté ^{177}Lu
Kritický orgán	Dolní část tlustého střeva (při požití), plíce (při inhalaci)
Možný průnik do organizmu	Požitím, inhalací, poraněním, absorpcí přes kůži
Dávkový příkon (γ)	$7,636 \cdot 10^{-6}$ Sv/h ze zdroje o aktivitě 1Mbq ve vzdálenosti 1m (0,028 mrem/h ze zdroje o aktivitě 1mCi ve vzdálenosti 1m)
Radiologické riziko	Ozáření, vnější a vnitřní kontaminace

Tabulka 36.

Stínění:

Fotony gama	Pro snížení na 50%	Pro snížení na 10%
Olovo[Pb]	0,6 mm	2,1mm
Beta	0,135 cm Plexiskla (určeno pro $E\beta_{max}=470$ keV a hustotu plexiskla 1,18g/cm ³)	

Tabulka 37.

8. Seznam použité literatury:

- 1) Lebedev N.A., Novgorodov A.F., Misiak R., Brockmann J., Rösch F. Radochemical separation of no-carrier-added ^{177}Lu as produced via the $^{176}\text{Yb}(\text{n},\gamma)$ $^{177}\text{Yb} \rightarrow ^{177}\text{Lu}$ process. *Appl. Radiat. Isot.* 53, 421- 425 (2000).
- 2) Sola G.A.R., Arguelles M.G., Chakraborty S., Das T., Unni P.R., Sarma H.D., Samul D., et al. Lutetium-177-EDTMP for bone pain palliation. Preparation, biodistribution and preclinical studies. *Radiochim Acta* 88, 157-161 (2000).
- 3) Stimmel J.B., Kull F.C. Jr. Samarium-153 and Lutetium –177 Chelation Properties of Selected Macroyclic and Acyclic Ligands. *Nuc. Med. Biol.* 25, 223-238 (1998).
- 4) Pillai M.R.A., Charkaboty S., Das T., Venkatesh M., Ramamoothy N. Production logistics of ^{177}Lu for radionuclide therapy. *Appl. Radiat. Isot.*, 59, 109-118 (2003).
- 5) Charkaboty S., Das T. ^{177}Lu labeled polyaminophosphonates as potential agents for bone pain palliation. *Nuc. Med. Commun.* 23, 67-74 (2002).
- 6) Zimmerman B.E., Unterweger M.P., Brodack J.W. The standardization of ^{177}Lu by $4\pi\beta$ liquid scintillation spectrometry with ^3H -standard efficiency tracing. *Appl. Radiat. Isot.* 54, 623-631 (2001).
- 7) Li W.P., Ma D.S., Higginbotham C., Hoffman T., Ketrin A.R., Cutler C.S., Jurisson S.S. Development of an in vivo model for assessing the in vivo stability of lanthanide chelates. *Nuc. Med. Biol.* 28, 145-154 (2001).
- 8) Semenov G.A. Khimia vysokych temperatur. Khim Slikatov 32, 228-230 (1963).
- 9) Kulvarskaya B.S., Maslovskaya R.S., Radiotekhn. Eletron. 32 124-160 (1960).
- 10) White D., Walsh P.N., Ames L.L., Goldstein H.W. Thermodynamic nuclear materials proc. Sympozium. 417-440 (1962).
- 11) Ackerman R.J., Rauth E.G. Thorn R.J. *J.Chem Phys.* 40, 883-889 (1964).
- 12) Semenov G.A. v Dokl. Adad. Nauk SSSR 141, 652-654 (1961). (anglický překlad jako Proc. Acad. Sci. USSR Chemical section 141, 1192-1194 (1961)).
- 13) Kropáček M. Příprava makroagregátů holmia pro využití v radiační synvektomii. Disertační práce VŠCHT Praha 2000.
- 14) Mordovin O.A., Timofjeva N.I., Drozdova L.N. Izvjestije Akadem. Nauk SSSR Neorgan. Materialy 3, 187-189 (1967). (anglický překlad jako Inorg. Materials [USSR] 3, 159-162 (1967)).
- 15) Noguchi T., Mizuno M. *Solar Energy* 11, 90-94 (1967).
- 16) Gospal R., Husain M.M. *J. Indian chem. Soc.* 44, 726-7 (1967).
- 17) Habermann C.E., Dane A.H. *J.Chem. Phys.* 41, 2818-2827 (1964).
- 18) Walker A., Ferraro J.R. *J. Chem.Phys.* 43, 2689-92 (1965).
- 19) Patil K.C., Gosavi R.K., Rao C.N.R. *Inorg. Chim. Acta* 1, 155-60 (1967).
- 20) Marsh J.K. *J. Chem. Soc.* 3, 561-562 (1941).
- 21) Wendlandt W.W., Bear J.L. *J.Inorg. Nucl. Chem.* 12, 276-280 (1960).
- 22) Vinarov I.V., Korneli M.E. *Khim. Prom. Nauk Tekhn. Zb.* 2 32-35 (1962). CA 71, 18416 (1969).
- 23) Panieva L.A. *Materialy 7th Nauchn. Konf. Aspir.*, Rostov na Donu Gos. Univ., 1967 (1968), S. 209/11; CA 71, Nr. 18416 (1969).

- 24) Gmelin handbook Inorg. Chem., Syst. No. 39, C4a, 51; C4b 319 (1982).
- 25) Brown D. Halides of the lanthanides and actinides, Wiley-Interscience, 148 (1968).
- 26) Sakharova Yu.G. et al. Zh. Neorg. Khim. 21, 551 (1976). (anglický překlad Russ. J. Inorg. Chem. 21, 276 (1976)).
- 27) Habenshuss A. et al. Cryst. Struct. Commun. 9, 159 (1980).
- 28) Spedding F.H. et al. J. Chem. Phys. 56, 1948-1956 (1972).
- 29) Lee E.P.F. et al Proc. R. Soc. London, A. 381, 373-89 (1982).
- 30) Commission on Atomic Weights and Isotopic Abundance report for the International Union of Pure and Applied Chemistry 70, 217 (1998) (převzato z www.webofelements.com.).
- 31) Vinšová H. Využití krátkodobých radionuklidů Y a Ho v systémech Y(Ho)-ligand-protilátka vhodných pro farmaceutickou aplikaci. Diplomová práce VŠCHT Praha 2002.
- 32) Kovalenko P.N., Azhipa L.T., Evstifeev M.M. Zh. Prikl. Khim. 41, 198-200 (1968).
- 33) Podralská D. Využití radionuklidů holmia a yttria pro přípravu vybraných komplexů pro radiofarmaceutickou aplikaci. Diplomová práce VŠCHT Praha 2001.
- 34) Nuclide Safety Data Sheet, Lutetium-177, www.nchps.org.