

Xây dựng quy trình phân tích kiểm tra chất lượng dược chất phóng xạ ^{18}F -Choline

Vũ Thanh Quang^{1*}, Hà Ngọc Khoán¹, Bùi Thanh Rin¹, Nguyễn Trung Dũng¹, Phạm Tuấn Linh¹,
Nguyễn Thị Hải Yến¹, Đoàn Thị Thu Hiền²

¹Trung tâm Máy gia tốc 30 MeV, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

²Viện Công nghệ Xạ hiếm, Viện Năng lượng Nguyên tử Việt Nam

Ngày nhận bài 29/1/2021; ngày chuyển phản biện 4/2/2021; ngày nhận phản biện 2/3/2021; ngày chấp nhận đăng 16/3/2021

Tóm tắt:

Dược chất phóng xạ ^{18}F Fluoromethylcholine (^{18}F -Choline, ^{18}F -FCH) được sản xuất trên thiết bị tổng hợp tự động tại Trung tâm Máy gia tốc 30 MeV, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. Để được cấp phép dùng cho người bệnh, dược chất phóng xạ ^{18}F -FCH cần đạt các chỉ tiêu chất lượng theo yêu cầu của Dược điển. Mục tiêu của nghiên cứu này là xây dựng quy trình và thực hành phân tích kiểm tra chất lượng ^{18}F -FCH theo các chỉ tiêu đòi hỏi của Dược điển EuPh2017 đối với dược chất phóng xạ dùng cho thiết bị ghi hình PET. Kết quả thu được khẳng định: tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm 1 mẫu ^{18}F -FCH là <35 phút; định danh ^{18}F -FCH, độ tinh khiết hóa phóng xạ và hàm lượng ^{18}F được xác định với độ chính xác >96% bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp; hàm lượng các dung môi dư Ethanol, Acetonitrile, Dibromomethane, Dimethylethanolamine được xác định với độ chính xác >97% bằng phương pháp sắc ký khí.

Từ khóa: dược chất phóng xạ PET, kiểm tra chất lượng ^{18}F -Choline, quy trình phân tích ^{18}F -FCH, ung thư tuyến tiền liệt (PC).

Chỉ số phân loại: 3.2

Đặt vấn đề

Năm 2020, tại Việt Nam ước tính có 182.563 ca mắc mới và 122.690 ca tử vong do ung thư. Cứ 100.000 người thì có 159 người chẩn đoán mắc mới ung thư và 106 người tử vong do ung thư. Việt Nam xếp thứ 91/185 về tỷ suất mắc mới và thứ 50/185 về tỷ suất tử vong trên 100.000 người [1]. Dược chất phóng xạ phổ biến nhất trong nghiên cứu và phát hiện sớm ung thư là ^{18}F Fluoro-Deoxy-Glucose (^{18}F -FDG). Đây là dược chất phóng xạ duy nhất đang được sử dụng cho ghi hình PET, PET/CT để chẩn đoán bệnh ung thư tại 12 bệnh viện trong nước là Trung ương Quân đội 108, Quân y 103, Bạch Mai, Việt Đức, Ung bướu Hà Nội, Vinmec, K Hà Nội, Ung bướu Đà Nẵng, Chợ Rẫy, Quân y 175, Ung bướu TP Hồ Chí Minh và Nhân dân 115. Đối với ung thư tuyến tiền liệt, ^{18}F -FDG định hình khối u thông qua hoạt động chuyển hoá đường Gluco. Tuy nhiên do tốc độ hấp thu ^{18}F -FDG của tế bào khối u tuyến tiền liệt thấp mà hình ảnh thu được không rõ nét, đặc biệt rất khó ghi hình định vị chính xác khối u trong khu vực hố chậu. Dược chất phóng xạ ^{18}F -FCH được xem là có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn so với ^{18}F -FDG trong ghi hình ung thư tuyến tiền liệt (PC) và ung thư biểu mô tế bào gan (HCC) [2].

Tại châu Âu, dược chất phóng xạ phát xạ positron

^{18}F -FCH đã được sản xuất [3-5] và sử dụng cho ghi hình PET, PET/CT chẩn đoán bệnh PC [6-8], HCC [9, 10] và một số loại bệnh ung thư khác [11, 12]. Chỉ tiêu chất lượng của ^{18}F -FCH dùng cho bệnh nhân đã được liệt kê trong Dược điển EuPh2017 (European Pharmacopoeia 2017, Radiopharmaceutical Preparation 2017, IV-733, 734).

Tại Việt Nam, tính đến 12/2020, không có chỉ định sử dụng ^{18}F -FCH trong chẩn đoán bệnh vì dược chất phóng xạ ^{18}F -FCH chưa được cấp phép, đang trong giai đoạn sản xuất, kiểm tra chất lượng và thử nghiệm tiền lâm sàng trên động vật [12, 13]. Để được cấp phép sử dụng trong nghiên cứu và chẩn đoán bệnh cho người thì ^{18}F -FCH phải thỏa mãn các chỉ tiêu chất lượng của thuốc được ghi trong Dược điển. Vì vậy, kết quả phân tích kiểm tra chất lượng dược chất phóng xạ ^{18}F -FCH là cơ sở dữ liệu có tính quyết định cho cấp phép sản xuất và sử dụng thuốc. Nghiên cứu này nhằm mục đích xây dựng quy trình phân tích kiểm tra, đánh giá chất lượng dược chất phóng xạ ^{18}F -FCH được sản xuất tại Trung tâm Máy gia tốc 30 MeV, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. Kết quả thu được là cơ sở cho việc cấp phép sản xuất và đưa dược chất phóng xạ này vào thực hành lâm sàng, chẩn đoán thường quy; tăng thêm lựa chọn cho nghiên cứu, chẩn đoán bệnh hiệu quả, đặc biệt là PC và HCC tại Việt Nam.

* Tác giả liên hệ: Email: vtquang.vie@gmail.com

Analytical procedure for quality control of ^{18}F -Choline radiopharmaceutical

Thanh Quang Vu^{1*}, Ngọc Khoan Ha¹, Thanh Rin Bui¹,
Trung Dung Nguyen¹, Tuan Linh Pham¹,
Thi Hai Yen Nguyen¹, Thi Thu Hien Doan²

¹30 MeV Cyclotron Centre, 108 Military Central Hospital

²Institute for Technology of Radioactive and Rare Elements,
Vietnam Atomic Energy Institute

Received 29 January 2021; accepted 16 March 2021

Abstract:

^{18}F Fluoromethylcholine (^{18}F -Choline, ^{18}F -FCH) has been produced using a home-made automatic synthesiser at 30 MeV Cyclotron Centre, 108 Military Central Hospital. In order to be licensed using for patients, the ^{18}F -FCH radiopharmaceutical needs to meet the required quality specifications listed in the pharmacopeia. The objective of this study was to build up the analytical procedure and to perform for the ^{18}F -FCH quality control followed the EuPh2017 pharmacopeia for the PET radiopharmaceutical. The result obtained confirmed that the total time to complete the test of one sample of the ^{18}F -FCH was less than 35 min. Identifications of ^{18}F -FCH, radiochemical purity, and ^{18}F content were determined with accuracy >96% by High-performance liquid chromatography (HPLC) method and content of residual solvents consists of Ethanol, Acetonitrile, Dibromomethane, Dimethylethanolamine were determined with the accuracy >97% by Gas chromatography (GC) method.

Keywords: ^{18}F -Choline quality control, ^{18}F -FCH analytical procedure, PET radiopharmaceutical, prostate cancer (PC).

Classification number: 3.2

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Hóa chất và thiết bị chính

Hóa chất chuẩn để kiểm tra chất lượng ^{18}F -FCH gồm: Kriptofix K222, Dibromomethane (DBM), Dimethylethanolamine (DMEA), Choline chloride, Fluoromethylcholine (FMC), Acetonitrile, Ethanol, Dimethyl sulfoxide (DMSO), Naphthalene-2-sulfonic acid và Phosphoric acid có độ tinh khiết HPLC (Hãng ABX).

Các máy kiểm tra chất lượng ^{18}F -FCH gồm: pH-Meter766 Calimatic (Knick); PTW Curimenter 4 (Freiburg); Endosafe PTS100 (Charles River Lab); sắc ký lỏng cao áp HPLC 1200; sắc ký khí GC6850 (Agilent); sắc ký bản mỏng TLC miniGita và hệ đo Gabi half life time (Raytest).

Phương pháp và quy trình phân tích

Mẫu dùng để phân tích kiểm tra chất lượng ^{18}F -FCH được robot chia liều tự động, trong hotcell có áp suất âm 100-150 bar và độ sạch cấp A. Mẫu thông thường là 1,5-2 ml dung dịch đã qua phin lọc 0,22 μm , có hoạt độ phóng xạ <20 mCi, đựng trong lọ thủy tinh kín, vô trùng. Lọ được đặt trong container chì che chắn phóng xạ. Mở lọ, lấy mẫu được thực hiện sau kính chì L-Block, trong phòng áp lực âm 20 bar, độ sạch mức C. Các chỉ tiêu chất lượng và phương pháp kiểm tra như sau:

- Cảm quan: quan sát bằng mắt mẫu kiểm nghiệm qua kính che chắn phóng xạ (L-block).

- pH: sử dụng pH-Meter766 Calimatic (Knick) hoặc giấy pH (1-14 $\pm$ 0,1). Chuẩn máy bằng 2 dung dịch đệm chuẩn có pH là 4,01 và 9,21. Cảm quang và pH được tiến hành đồng thời khi mở, lấy mẫu kiểm nghiệm vào micropipette. Thời gian thực hiện 1-5 phút. Tiêu chuẩn chấp nhận đạt chất lượng theo EuPh2017 là: mẫu ^{18}F -FCH có pH từ 4,5-8,5; phải trong suốt và không màu hoặc màu vàng nhạt.

- Thời gian bán rã $T_{1/2}$: sử dụng máy đo $T_{1/2}$ hoặc máy đo hoạt độ phóng xạ để xác định thời gian bán phân rã của mẫu. Mẫu xác định $T_{1/2}$ dùng micropipette rỗng của mẫu HPLC hoặc GC. Thời gian ghi đo 15 và 30 phút.

- Định danh và độ tinh khiết hóa phóng xạ: xác định bằng sắc ký lỏng cao áp HPLC 1200 có Reflexive Index Detector và NaI Radiation detector; cột sắc ký Innertsil ODS-2 6x250 mm, kích thước hạt nhựa trao đổi ion 5 μm . Pha động là dung dịch 0,001 M Naphthalene-2-sulfonic acid và 0,05 M Phosphoric acid trong nước HPLC grade; tốc độ dòng 1 ml/phút; bơm 20 μl dung dịch mẫu vào hệ sắc ký, ghi phổ sắc ký và xác định diện tích của các đỉnh chính. Diện tích đỉnh phóng xạ của ^{18}F -FCH không được nhỏ hơn 95% tổng diện tích của các đỉnh có trong mẫu.

Ghi phổ sắc ký mẫu ^{18}F -FCH và mẫu chuẩn Fluoromethylcholine, thời gian ghi phổ 30 phút. Tiêu chuẩn chấp nhận mẫu ^{18}F -FCH đạt chất lượng theo EuPh2017 là

sai số của thời gian lưu (RT) giữa dung dịch mẫu và dung dịch chuẩn $\pm 10\%$; độ tinh khiết hóa phóng xạ $>95\%$.

- ^{18}F và độ tinh khiết hóa phóng xạ: xác định bằng sắc ký bản mỏng TLC, phần mềm MiniGita (Raytest), pha tĩnh là bản mỏng Silicagel trên kính 5x20 cm, dung dịch pha động là 25 ml hỗn hợp Acetonitrile: Saline=1:1 v/v; thể tích mẫu 2 μl ; thời gian phát triển mẫu 20 phút, thời gian ghi phổ 1 phút.

Dùng bút chì kẻ vạch ngang thứ nhất cách mép 1,5 cm của bản mỏng Silicagel; kẻ đường ngang thứ 2 cách đường ngang thứ nhất 10 cm. Lấy 2 μl dung dịch mẫu ^{18}F -FCH chấm vào chính giữa đường ngang thứ nhất, làm khô bản mỏng tự nhiên; sau đó nhúng đầu có xạ vào dung dịch pha động, phát triển đến khi chạm vạch ngang thứ 2 thì nhấc ra, làm khô và đặt lên bản quét theo đúng chiều (vạch chấm xạ ở dưới) và mép dưới bản mỏng trùng với vạch ngang trên bản quét. Bản mỏng nằm giữa và song song với 2 đường dọc trên bản quét. Máy sẽ tự động dừng sau 1 phút quét ghi phổ. Cắt bản mỏng vào nơi có che chắn bằng chì. Thời gian hoàn thành phân tích 1 mẫu là <30 phút. Tiêu chuẩn chấp nhận mẫu ^{18}F -FCH đạt chỉ tiêu chất lượng theo EuPh2017 là diện tích đỉnh của ^{18}F -FCH $\geq 95\%$, trong đó ^{18}F $\leq 5\%$ so với tổng diện tích 2 đỉnh ^{18}F và ^{18}F -FCH.

- Dimethylethanamine (DMEA), Dibromomethane (DBM), Acetonitrile và Ethanol: xác định bằng sắc ký khí (GC6850) dựa vào đường chuẩn của các chất trên. Thể tích mẫu 1 μl ; mỗi điểm nồng độ chuẩn (bảng 1) được xác định lặp 4 lần và lấy giá trị diện tích đỉnh phổ trung bình. Nhiệt độ buồng đốt 170°C , nhiệt độ cột 250°C , lưu lượng khí He qua cột 3 ml/phút, thời gian ghi phổ 30 phút. Tính độ chênh lệch giữa thời gian lưu của dung môi hiện diện trong sản phẩm cuối và dung môi chuẩn theo công thức: độ chênh lệch, % = $(RT_{\text{mẫu}} - RT_{\text{chuẩn}}) / RT_{\text{chuẩn}} * 100$. Trong đó RT là thời gian lưu. Tiêu chuẩn chấp nhận mẫu ^{18}F -FCH đạt chỉ tiêu chất lượng theo EuPh2017 là độ chênh lệch thời gian lưu $\leq \pm 10\%$; không có đỉnh lạ xuất hiện trên phổ; hàm lượng dung môi còn dư trong sản phẩm ^{18}F -FCH: DMEA $<100 \mu\text{g/ml}$; DBM $<10 \mu\text{g/ml}$; Acetonitrile $<400 \mu\text{g/ml}$ và Ethanol $<5000 \mu\text{g/ml}$.

Bảng 1. Nồng độ các chất chuẩn.

TT	Ethanol (mg/ml)	Acetonitrile (mg/ml)	DMEA (mg/ml)	DBM (mg/ml)
1	0,10	0,20	0,25	1,00
2	0,20	0,40	0,50	2,00
3	0,40	0,80	1,00	4,00
4	0,60	1,20	2,00	8,00

- Kriptofix: dùng phương pháp so màu với 3 mẫu chuẩn Kriptofix có nồng độ: 0,2; 0,04 và 0,02 mg/ml trên bản mỏng Silicagel 2x10 cm. Thời gian phát triển mẫu là 10 phút.

Lấy 1 bản mỏng, dùng bút chì đánh dấu 1 đầu. Nhỏ lần

lượt chất chuẩn Kriptofix2.2.2 ở 3 nồng độ, nồng độ cao ở dưới cách nhau 2 cm. Nhỏ dung dịch mẫu ^{18}F -FCH lên trên cùng, cách Kriptofix2.2.2 chuẩn 3 chừng 2 cm. Đặt bản mỏng vào trong bình chứa iod có nắp đậy, phát triển trong khoảng 10 phút. Lấy bản mỏng ra, so màu với các chấm dung dịch chuẩn. Nếu không xuất hiện màu hoặc màu nhạt hơn chuẩn 3 thì lượng Kriptofix2.2.2 dư của mẫu là $<0,02 \text{ mg/ml}$. Nếu mẫu thử có màu nhạt hơn chuẩn 2 thì Kriptofix2.2.2 dư là $<0,04 \text{ mg/ml}$ và tương tự $<0,2 \text{ mg/ml}$. Tiêu chuẩn chấp nhận mẫu ^{18}F -FCH đạt chỉ tiêu chất lượng theo EuPh2017 là hàm lượng Kriptofix không được vượt quá $0,04 \text{ mg/ml}$.

- Nội độc tố vi khuẩn Endotoxin: xác định bằng phương pháp LAN trên máy Endosafe PTS100, dùng cartridge chuẩn của hãng Charles River Lab gồm 4 giếng đo đã chứa chất chuẩn.

Lấy 0,5-1 μl mẫu, nhỏ đều vào 4 giếng, nạp vào máy. Máy sẽ tự động làm mẫu và đo. Thời gian hoàn thành xét nghiệm 1 mẫu <25 phút. Tiêu chuẩn chấp nhận mẫu ^{18}F -FCH đạt chỉ tiêu chất lượng theo EuPh2017 là hàm lượng Endotoxin $\leq 17,5 \text{ EU/ml}$.

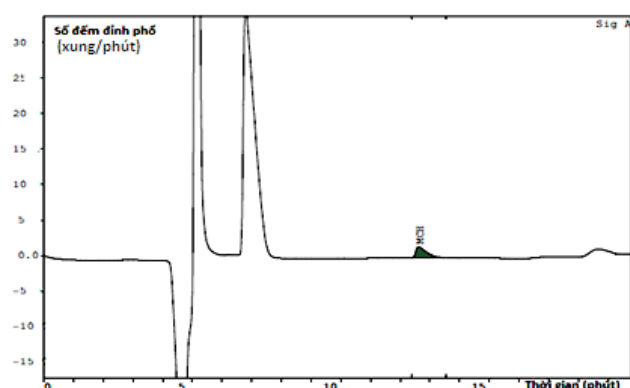
- Vô trùng: xác định trên cơ sở kết quả cấy khuẩn.

Kết quả và thảo luận

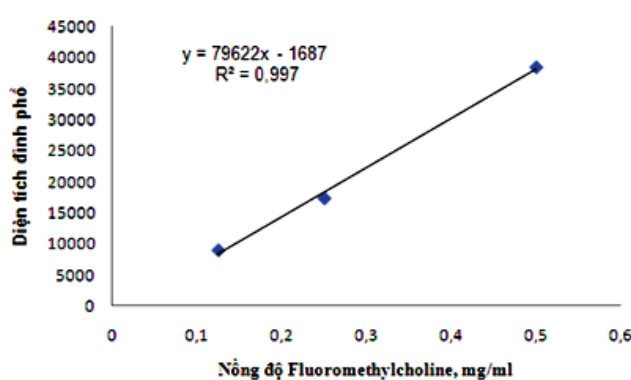
Dược chất phóng xạ ^{18}F -FCH được tổng hợp tự động theo quy trình 8 bước [13]. Sản phẩm ^{18}F -FCH có thể tích 5 ml được chia thành các liều lưu kho, kiểm nghiệm và các liều đơn cho từng bệnh nhân. Dược chất phóng xạ ^{18}F -FCH chỉ được phép sử dụng cho bệnh nhân khi đạt tất cả các chỉ tiêu chất lượng ghi trong Dược điển, trừ chỉ tiêu độ vô trùng được xác nhận sau 2 tuần. Thời gian bán rã của ^{18}F là 109,77 phút, vì vậy thời gian thực hiện các phân tích kiểm tra chất lượng càng ngắn càng tốt. Trong nghiên cứu này, thời gian thực hiện kiểm tra chất lượng 1 mẫu ^{18}F -FCH là <35 phút, tương đương thời gian xét nghiệm 1 mẫu ^{18}F -FDG. Tất cả các xét nghiệm được tiến hành đồng thời.

Định danh và xác định độ tinh khiết hóa phóng xạ theo phương pháp HPLC

Hình 1 là phổ sắc ký HPLC của mẫu chuẩn Fluoromethylcholine có nồng độ 0,5 mg/ml. Quan hệ giữa diện tích đỉnh phổ và nồng độ Fluoromethylcholine cho phép xây dựng đường chuẩn xác định hàm lượng ^{18}F -FCH trong mẫu phân tích. Với 3 điểm nồng độ chuẩn khác nhau, phổ sắc ký HPLC cho số liệu dựng đường chuẩn hình 2. Trên cơ sở phương trình đường chuẩn này, độ chính xác của phương pháp HPLC được xác định là $>99,2\%$ và được biểu diễn trong bảng 2. Thời gian lưu định danh của Fluoromethylcholine được xác định trong khoảng 13,9-14,2 phút.



Hình 1. Phổ sắc ký HPLC của mẫu chuẩn Fluoromethylcholine.



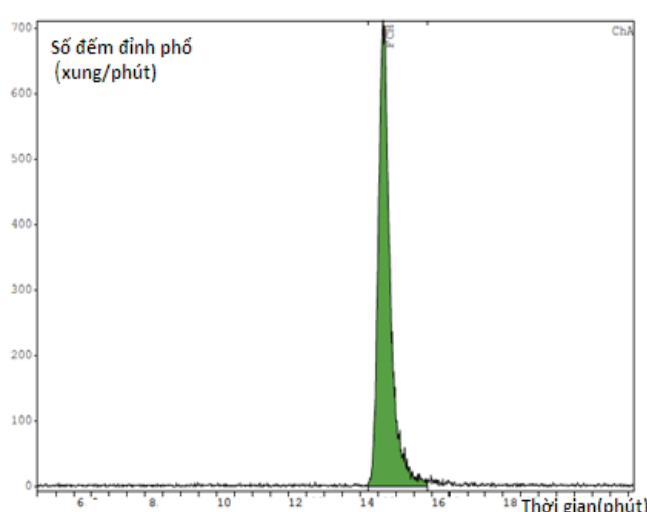
Hình 2. Đường chuẩn xác định Fluoromethylcholine trên HPLC.

Bảng 2. Thời gian lưu định danh và độ chính xác của phương pháp HPLC.

Mẫu chuẩn FMC	Nồng độ FMC chuẩn, C _{std} (mg/ml)	Thời gian lưu RT (phút)	Nồng độ FMC xác định từ đường chuẩn hình 2, C _{calc} (mg/ml)	Độ chính xác tương đối (%)
M1	0,125	12,87±1,29	0,132801	93,76
M2	0,250	12,78±1,28	0,238279	95,31
M3	0,500	12,63±1,26	0,503896	99,22
Độ chính xác trung bình (%)				96,09

Trong đó: độ chính xác tương đối (%) = $100 \cdot [100 \cdot (ABS(C_{std} - C_{calc}) / C_{std})]$.
Độ chính xác trung bình (%) là trung bình cộng của độ chính xác tương đối.

Áp dụng phương pháp HPLC đối với mẫu được chất phóng xạ ^{18}F -FCH thuộc 3 lô khác nhau. Kết quả trình bày trên hình 3 và bảng 3. Phổ sắc ký HPLC của tất cả 3 mẫu đều chỉ có 1 đỉnh duy nhất chiếm 100% diện tích toàn phổ và có thời gian lưu trong khoảng 13,9-14,2 phút là thời gian lưu định danh của chất chuẩn FMC. Chứng tỏ mẫu phân tích chứa chất phóng xạ duy nhất là ^{18}F -FCH với hàm lượng 100% và không có ^{18}F tự do. Kết quả này được khẳng định thêm bằng phương pháp phân tích phổ sắc ký bản mỏng TLC.



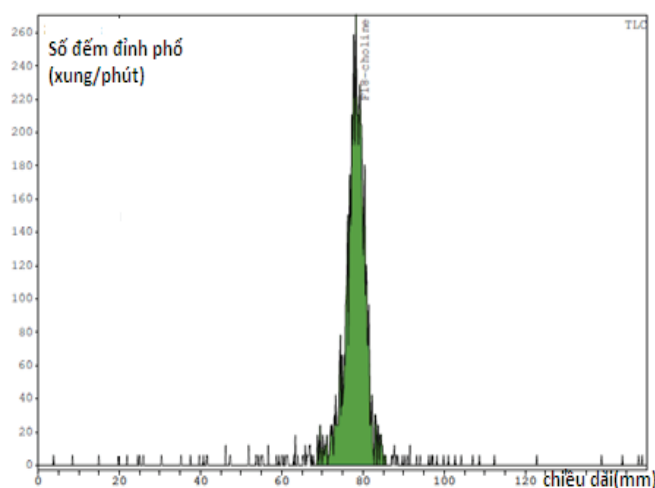
Hình 3. Phổ sắc ký HPLC của mẫu ^{18}F -FCH, RT=14,15 phút.

Bảng 3. Định danh và độ tinh khiết hóa phóng xạ của 3 mẫu ^{18}F -FCH xác định bằng phương pháp HPLC.

Mẫu ^{18}F -FCH	Số lượng đỉnh phổ	RT (phút)	% diện tích đỉnh phổ	Hàm lượng ^{18}F -FCH (%)	Hàm lượng ^{18}F (%)
FCH-19-4-20	1	13,88	100,0	100,0	0,0
FCH-05-12-20	1	14,17	100,0	100,0	0,0
FCH-04-12-20	1	14,15	100,0	100,0	0,0

Xác định độ tinh khiết hóa phóng xạ theo phương pháp TLC

Phổ sắc ký TLC của mẫu ^{31}F -FCH đều có 1 đỉnh với diện tích >95% diện tích toàn phổ, chứng tỏ mẫu chỉ có 1 chất phóng xạ duy nhất với độ tinh khiết là 100% (hình 4, bảng 4).



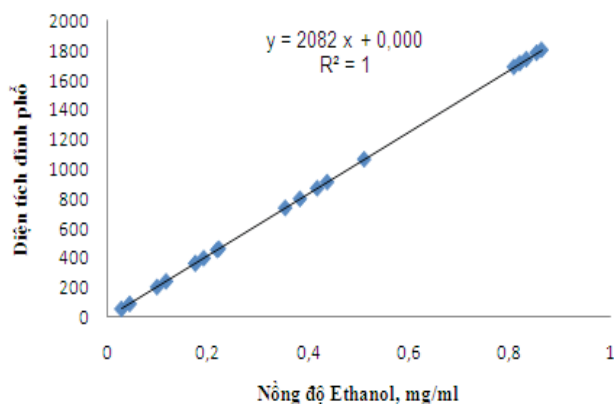
Hình 4. Phổ sắc ký TLC của mẫu ^{18}F -FCH, RT=89,07 mm.

Bảng 4. Độ tinh khiết hóa phóng xạ của 3 mẫu ^{18}F -FCH xác định bằng phương pháp TLC.

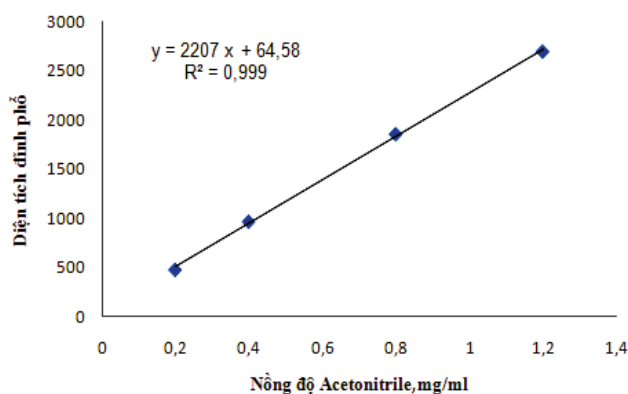
Mẫu ^{18}F -FCH	Số lượng đỉnh phổ	RT, mm	% diện tích đỉnh phổ	Hàm lượng ^{18}F -FCH (%)	Hàm lượng ^{18}F , (%)
FCH-19-4-20	1	87,41	96,76	100,0	0,0
FCH-05-12-20	1	91,40	95,63	100,0	0,0
FCH-04-12-20	1	89,07	96,82	100,0	0,0

Xác định dung môi dư

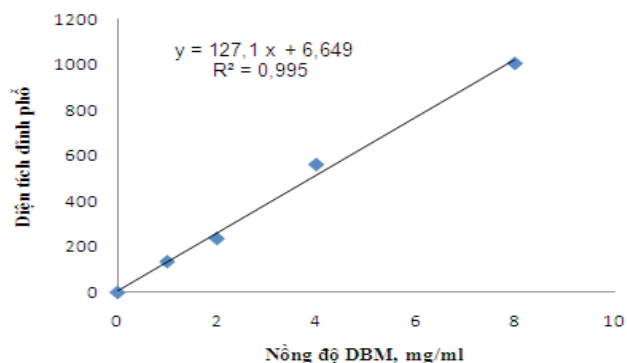
Phổ sắc ký GC của mẫu chuẩn cho biết thời gian lưu định danh và diện tích đỉnh phổ của mỗi chất. Thời gian lưu định danh của Ethanol, Acetonitrile, DBM và DMEA được xác định là $3,22 \pm 0,10$, $3,53 \pm 0,10$, $8,46 \pm 0,10$ và $16,40 \pm 0,10$ phút. Đường chuẩn định lượng mỗi chất được xây dựng từ tương quan giữa nồng độ (bảng 1) và diện tích đỉnh phổ. Kết quả được trình bày trong các hình 5, 6, 7, 8. Trên cơ sở phương trình đường chuẩn và nồng độ chuẩn của các chất, độ chính xác của phương pháp GC được xác định. Kết quả trình bày trong bảng 5.



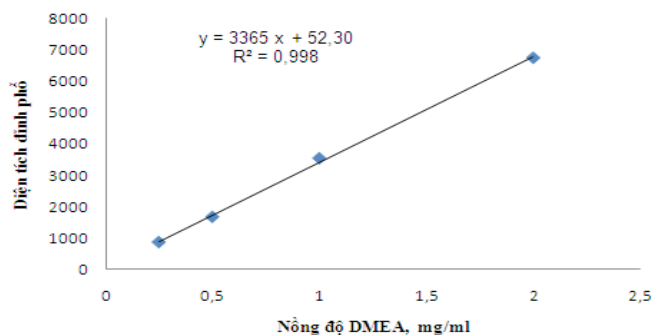
Hình 5. Đường chuẩn xác định Ethanol trên GC6850.



Hình 6. Đường chuẩn xác định Acetonitrile trên GC6850.



Hình 7. Đường chuẩn xác định Dibromomethane (DBM) trên GC6850.



Hình 8. Đường chuẩn xác định Dimethylethanolamine (DMEA) trên GC6850.

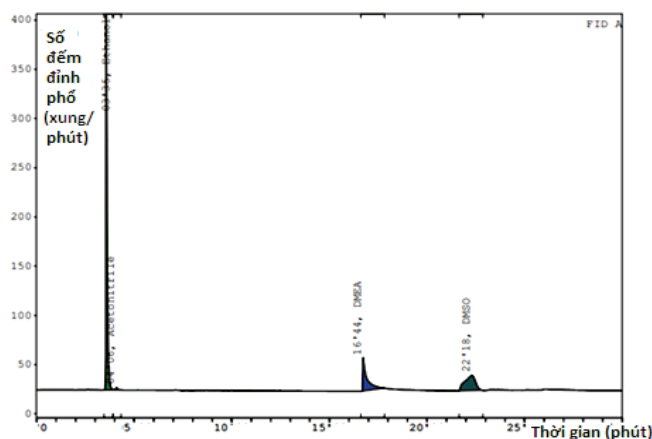
Bảng 5. Thời gian lưu định danh và độ chính xác của phương pháp GC.

Chất chuẩn	Nồng độ mẫu chuẩn C_{std} (mg/ml)	RT (phút)	Nồng độ xác định từ đường chuẩn C_{calc} (mg/ml)	Độ chính xác tương đối (%)
Ethanol	0,1	$3,22 \pm 0,10$	0,096388	96,388
	0,2	$3,22 \pm 0,10$	0,200344	99,828
	0,4	$3,22 \pm 0,10$	0,408385	97,903
	0,6	$3,22 \pm 0,10$	0,594937	99,516
Độ chính xác trung bình, %				98,31
Acetonitrile	0,2	$3,53 \pm 0,10$	0,187986	93,99
	0,4	$3,53 \pm 0,10$	0,409234	97,69
	0,8	$3,53 \pm 0,10$	0,811977	98,50
	1,2	$3,53 \pm 0,10$	1,191311	99,27
Độ chính xác trung bình, %				97,36
DBM	1,0	$8,46 \pm 0,10$	1,011529	99,98
	2,0	$8,46 \pm 0,10$	1,810618	99,90
	4,0	$8,46 \pm 0,10$	4,369501	99,90
	8,0	$8,46 \pm 0,10$	7,862303	99,98
Độ chính xác trung bình, %				99,94
DMEA	0,25	$16,40 \pm 0,10$	0,243905	99,97
	0,5	$16,40 \pm 0,10$	0,482605	99,96
	1,0	$16,40 \pm 0,10$	1,037287	99,96
	2,0	$16,40 \pm 0,10$	1,987103	99,99
Độ chính xác trung bình, %				99,97

Trong đó: độ chính xác tương đối là tỷ số giữa nồng độ tính được theo đường chuẩn và nồng độ của mẫu chuẩn. Mỗi chất chuẩn được tính ở 4 điểm nồng độ khác nhau. Giá trị trung bình của độ chính xác tương đối là độ chính xác của phương pháp GC.

Kết quả thu được trong bảng 5 cho thấy: phương pháp GC cho phép xác định đồng thời Ethanol, Acetonitrile, DBM và DMEA với độ chính xác >97%. Thời gian hoàn thành xét nghiệm 1 mẫu là <30 phút.

Áp dụng phương pháp GC cho 3 mẫu ^{18}F -FCH. Kết quả ghi phổ GC biểu diễn trên hình 9 có 4 đỉnh được định danh tự động là Ethanol, Acetonitrile, DMEA và DMSO, không ghi nhận đỉnh DBM. Kết quả xác định hàm lượng các dung môi dư được ghi trong bảng 6. Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng dung môi dư Ethanol, Acetonitrile, DBM và DMEA trong các mẫu FCH-19-4-20 và FCH-5-12-20 đều trong khoảng chấp nhận theo tiêu chuẩn Dược điển EuPh2017. Mẫu FCH-04-12-20 không đạt tiêu chuẩn chất lượng vì hàm lượng DMEA tồn dư trong mẫu là 130,299 $\mu\text{g/ml}$, lớn hơn tiêu chuẩn 100 $\mu\text{g/l}$. Trên phổ GC hình 9 cũng chỉ ra sự có mặt của dung môi DMSO (RT=22,18 phút) dùng để hòa tan DMEA. Dược điển EuPh2017 không đòi hỏi xác định chỉ tiêu này.



Hình 9. Phổ sắc ký GC của mẫu FCH-04-12-20.

Bảng 6. Hàm lượng dung môi tồn dư trong 3 mẫu ^{18}F -FCH.

Ký hiệu mẫu ^{18}F -FCH	Dung môi	RT (phút)	Diện tích đỉnh phổ	Hàm lượng dung môi trong mẫu ^{18}F -FCH ($\mu\text{g/ml}$)
FCH-19-4-20	Ethanol	3,21	457,52	219,73
	Acetonitrile	-	0,0	<1
	DBM	-	0,0	<1
	DMEA	13,31	239,73	55,701
FCH-05-12-20	Ethanol	3,35	1737,712	834,55
	Acetonitrile	4,06	14,154	6,64
	DBM	-	0,0	<1
	DMEA	17,0	359,498	91,292
FCH-04-12-20	Ethanol	3,35	1686,261	809,84
	Acetonitrile	4,06	15,584	7,31
	DBM	-	0,0	<1
	DMEA	16,44	490,732	130,299

Xác định hàm Kriptopix

Dùng phương pháp so màu với 3 mẫu chuẩn Kriptofix có nồng độ: 0,2; 0,04 và 0,02 mg/ml trên bản mỏng Silicagel 2x10 cm. Thời gian phát triển mẫu là 10 phút. Kết quả thu được khẳng định 3 mẫu thử trên có hàm lượng Kriptofix <0,04 mg/ml, thỏa mãn yêu cầu chất lượng theo Dược điển EuPh 2017.

Phương pháp LAN trên máy Endosafe PTS100: xác định Endotoxin

Phương pháp này được áp dụng cùng 1 quy trình cho tất cả các mẫu như ^{18}F -FDG hay ^{18}F -FCH. Sử dụng thẻ chuẩn (Standard Cartridge) của Hãng Charles River Lab. Các mẫu kiểm tra trong nghiên cứu này đều đạt chỉ tiêu chất lượng endotoxin <17,5 EU/ml. pH và $T_{1/2}$: tất cả 3 mẫu ^{18}F -FCH đều có pH=6-7 $\pm$ 0,1 và $T_{1/2}$ =105 $\pm$ 5 phút, đạt chỉ tiêu chất lượng theo Dược điển EuPh2017.

Các kết quả phân tích 3 mẫu ^{18}F -FCH nêu trên cho thấy: 1 mẻ thuốc sản xuất ngày 4/12/2020 (FCH-04-12-20) có chỉ tiêu DMEA tồn dư lớn hơn tiêu chuẩn cho phép, không đủ tiêu chuẩn chất lượng thuốc sử dụng cho người bệnh. Để giảm nồng độ DMEA tồn dư trong sản phẩm, cần hiệu chỉnh các thông số của bước 6, 7, 8 trong quy trình tổng hợp tự động dcpx ^{18}F -FCH [13, 14]. Hai mẻ còn lại đáp ứng đủ tiêu chuẩn chất lượng theo Dược điển EuPh2017 của thuốc dùng cho bệnh nhân.

Kết luận

Thuốc phóng xạ positron ^{18}F -FCH liên tục phân rã với tốc độ giảm hoạt độ còn 1/2 trong thời gian 1 chu kỳ bán rã, nghĩa là giá thành tăng gấp đôi cho 1 liều thuốc và số bệnh nhân có cơ hội được dùng thuốc cũng giảm tương ứng. Vì vậy, phương pháp phân tích kiểm tra chất lượng ^{18}F -FCH cần phải được thực hiện nhanh, đủ, chính xác các chỉ tiêu xét nghiệm với thời gian ít nhất có thể. Trong nghiên cứu này, quy trình phân tích kiểm tra chất lượng ^{18}F -FCH được thực hiện đồng thời trên các thiết bị HPLC, TLC, GC, Gabi Half Time, Endosafe PTS 100 kết nối qua mạng LAN; kết quả phân tích được truyền về máy tính chủ và kết xuất ra máy in. Thời gian hoàn thành phân tích kiểm tra chất lượng 1 mẫu ^{18}F -FCH là <35 phút, tương đương thời gian kiểm nghiệm 1 mẫu ^{18}F -FDG. Phương pháp phân tích HPLC không những định danh chính xác các thành phần hóa học của mẫu ^{18}F -FCH mà còn xác định độ tinh khiết hóa phóng xạ với độ chính xác >96%. Phương pháp GC cho phép xác định đồng thời các dung môi tồn dư trong mẫu với độ chính xác >97%.

Phương pháp phân tích nhanh, đủ và chính xác các chỉ tiêu chất lượng của mẫu ^{18}F -FCH không những trợ giúp hiệu

quả cho việc hiệu chỉnh, lựa chọn quy trình tổng hợp tối ưu mà còn là cơ sở dữ liệu quan trọng cho cấp phép sản xuất và sử dụng thuốc ^{18}F -FCH trong nghiên cứu và chẩn đoán bệnh; mở ra khả năng phá vỡ thế độc tôn duy nhất từ năm 2008 của dược chất phóng xạ ^{18}F -FDG; cung cấp nhiều hơn 1 lựa chọn chỉ định PET, PET/CT; hỗ trợ chẩn đoán chính xác, đặc hiệu và điều trị hiệu quả đối với một số bệnh ung thư, đặc biệt là ung thư tuyến tiền liệt và ung thư biểu mô tế bào gan tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bộ Y tế (2021), *Tình hình ung thư tại Việt Nam*, Cổng thông tin điện tử, moh.gov.vn, ngày 19/1/2021.
- [2] Shankar Vallabhajosula (2007), “ ^{18}F -Labeled positron emission tomographic radiopharmaceuticals in oncology: an overview of radiochemistry and mechanisms of tumor localization”, *Seminars in Nuclear Medicine*, **37**(6), pp.400-419.
- [3] X. Shao, et al. (2011), “Highlighting the versatility of the tracerlab synthesis modules. Part I: fully automated production of ^{18}F labelled radiopharmaceuticals using a Tracerlab FxN”, *J. Label Compd. Radiopharm*, **54**, pp.292-307.
- [4] Alessandro Sperandio, et al. (2014), “Automated synthesis of ^{18}F fluorocholine using a modified GE Tracer Lab module”, *Journal of Diagnostic Imaging in Therapy*, **1**(1), pp.49-58.
- [5] Y.Y. Huang, et al. (2017), “High yield one-pot production of ^{18}F FCH via a modified TRACERlab FxN module”, *Applied Radiation and Isotopes*, **128**, pp.190-198.
- [6] M. Playe, T. Cassou Mounat, L. Champion (2020), “ ^{18}F -choline PET/CT in prostate cancer biochemical relapse after external beam radiotherapy or brachytherapy: impact of PSA and kinetics”, *Médecine Nucléaire*, **44**(1), pp.53-64.
- [7] J.R.M. Garcia, M. Cozar, P. Soler, E. Bassa, M. Riera, E. Buxeda, J. Valls (2020), “Standardization of acquisition protocols using PET/CT with ^{18}F -Choline in prostate cancer”, *Revista Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular*, **39**(4), pp.204-211.
- [8] Eric Vigneault, Damien Carignan, Frédéric Pouliot, André Guy Martin (2019), “Feasibility of intraprostatic prostate cancer imaging with FCH-PET/CT for preoperative planning of image-guided HDR brachytherapy”, *Brachytherapy*, p.72.
- [9] J.N. Talbot, L. Fartoux, S. Balogova, V. Nataf, K. Kerrou, F. Gutman, V. Huchet, D. Ancel, J.D. Grange, O. Rosmorduc (2010), “Detection of hepatocellular carcinoma with PET/CT: a prospective comparison of ^{18}F -fluorocholine and ^{18}F -FDG in patients with cirrhosis or chronic liver disease”, *J. Nucl. Med.*, **51**(11), pp.1699-1706.
- [10] Julia Chalaye, Charlotte E. Costentin, Ala in Luciani, Giuliana Amaddeo (2018), “Positron emission tomography/computed tomography with ^{18}F -fluorocholine improve tumor staging and treatment allocation in patients with hepatocellular carcinoma”, *Journal of Hepatology*, **69**(2), pp.336-344.
- [11] G. Savelli, M. Bonacina, A. Rizzo, A. Zaniboni (2020), “Activated macrophages are the main inflammatory cell in COVID-19 interstitial pneumonia infiltrates. Is it possible to show their metabolic activity and thus the grade of inflammatory burden with ^{18}F -Fluorocholine PET/CT?”, *Medical Hypotheses*, **144**, p.109885.
- [12] Laura Olivari, Niccolò Riccardi, Paola Rodari, Andrea Angheben, Paolo Artioli, Matteo Salgarello (2020), “COVID-19 pneumonia: increased choline uptake with ^{18}F -choline PET/CT”, *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, **47**, pp.2476-2477.
- [13] Vũ Thanh Quang, Hà Ngọc Khoán, Bùi Thanh Rìn, Nguyễn Trung Dũng (2019), *Nghiên cứu chế tạo máy tổng hợp tự động dược chất phóng xạ ^{18}F -FCH dùng cho PET/CT*, Hội thảo VINANST-13, Hạ Long, Quảng Ninh.
- [14] Vũ Thanh Quang, Hà Ngọc Khoán, Bùi Thanh Rìn, Nguyễn Trung Dũng, Phạm Tuấn Linh, Đoàn Thị Thu Hiền (2020) “Nghiên cứu điều chế dược chất phóng xạ ^{18}F -Choline tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, **62**(11), tr.59-64.