

TLC-menetelmä radiolääkkeiden laadunvalvonnassa

Merja Haaparanta-Solin, FT
TY, Valtakunnallinen PET-keskus

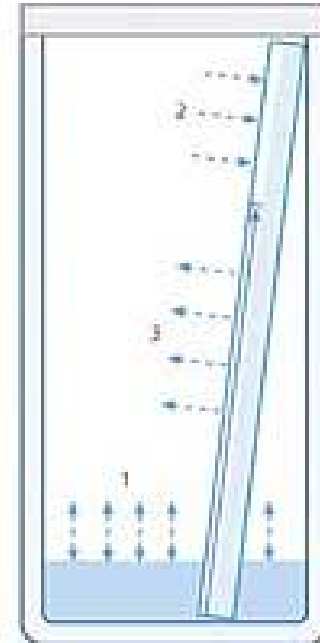
17.11.2006

Luennon sisältö

1. Mitä TLC on?
2. Tarvikkeet
3. Työn suoritus
4. Radioaktiivisuuden mittaaminen
5. Radiolääkkeen puhtaus
6. Toistettavuus
7. Dokumentointi
8. Validointi
9. Esimerkkejä

Mitä ohutkerroskromatografia on?

- TLC (Thin Layer Chromatography)
- Perustuu näytteen jakaantumiseen liikkuvan ja kiinteän faasin kesken
 - liikkuva faasi (ajoliuos)
 - kiinteä faasi (levyn pinta)
- Lisäksi näytteeseen vaikuttaa kehitysastian höyryfaasi
 - höyryfaasi (höyrystynyt ajoliuos)



Tarvikkeet

- TLC-levy
- Ajoliuos
- Näytteen applikointivälineet
- Kehitysastia
- Radioaktiivisuuden mittaamiseen tarvittava laite
- Dokumentointikaavake

Levymateriaalit

- Taustamateriaali
 - lasi, muovi, alumiinifolio
- Pintamateriaali
 - silika, selluloosa, Al-oksidi, RP-18 jne.
- Pintamateriaalin ominaisuudet
 - paksuus, F254 tai F366 (lisätty fluoresenssi-indikaattoria), W (wetable)
- Levykoko
 - 20 cm x 20 cm, 10 x 20 cm, jne

TLC:n ajoliuos

- Ajoliuoksen on oltava tuore
- Ajoliuos on kertakäyttöinen
- Jos ajoliuos on seos niin seossuhteet ilmoitetaan tilavuussuhteina (esim. 4:1:1, v/v/v)
- Liuokset mitataan erikseen mittalaseilla ja sekoitetaan pullossa - EI kehitysastiassa
- Liuosta mitataan astiaan aina sama määrä
- Jos kehitysastia on ns. Twin-astia niin liuosta laitetaan kumpaankin uraan

Näytteen applikointi

- Pohja- ja rintamaviivan paikat voi merkitä levyn sivuun kevyesti lyijykynällä
- Varo levypinnan vahingoittumista
- Näyte applikoidaan kapillaarilla tai pipetillä
- Applikointitilavuus riippuu näytteen
 - radioaktiivisuuskonsentraatiosta (Bq/ μ l)
 - levymateriaalista
 - mittalaitteen herkkyydestä

Applikointi jatkuu...

- Kuivaa applikointitäplät ennen kuin laitat levyn kehitysastiaan (ellei ohjeessa toisin määrätä)
- Levyä voi kuivata varovasi esim. puhaltamalla hiustenkuivaajalla kylmää ilmaa tai antamalla näytteen kuivua itsestään
- Näytetäplien on oltava levyllä niin korkealla etteivät ne "ui" ajoliuoksessa

Levyn kehitys

- Levy asetetaan kehitysastiaan pystyasentoon levyn yläreuna astian seinämää vasten
- Ajomatka riippuu levymateriaalista
 - ajoliuosrintama ei saa mennä aivan levyn yläreunaan
- Levy poistetaan astiasta ja
- kuivataan esimerkiksi hiustenkuivaajalla tai annetaan kuivua itsestään

Detektointi

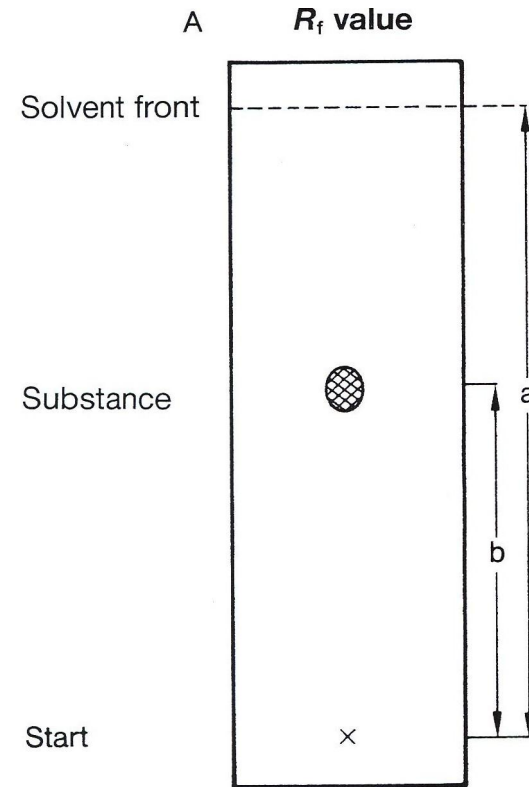
- UV (254 nm) tai kemiallinen (esim. I₂)
- Radioaktiivisuus
 - Skanneri
 - Isotooppikalibraattori (levypalasten mittaus)
 - Autoradiografia (filmi, fosfoimager)
 - Gammakamera

Retentiokerroin eli R_f - arvo

-Retentiokerroin eli R_f -arvo ilmoittaa näytteen kulkeman matkan suhteessa liuosrintaman kulkemaan matkaan

$$R_f = b/a$$

$$R_f \leq 1$$



$$R_f = \frac{b}{a} = \frac{\text{Migration distance: substance}}{\text{Migration distance: solvent front}}$$

Toistettavuus

- TLC-kromatogrammit ovat toistettavia jos on:
 - sama kehitysastia
 - sama kehitysastian saturaatioaika
 - samanlainen levy

Radiolääkkeen puhtaus

- Radionuklidinen puhtaus
- Kemiallinen puhtaus
- **Radiokemiallinen puhtaus**
- Steriiliys
- Pyrogeenittomuus

Radiokemiallinen puhtaus

- Radiokemiallinen puhtaus (%) =
(Radiolääkkeen R_f -arvolla oleva
radioaktiivisuus/
koko kromatogrammin radioaktiivisuus)
x 100

Dokumentointi

TLC-tiedot on aina dokumentoitava:

- Levymateriaali (artikkelinumero)
- Ajoliuoksen valmistus (pvm, tekijä)
- Näytteen applikointi (tilavuus)
- Levyn kehitys (astia, liuostilavuus, sat.)
- Levyn dokumentointi (spot, front, näyte, pvm)
- Radioaktiivisuuden mittausmenetelmä
- Tulosten laskeminen

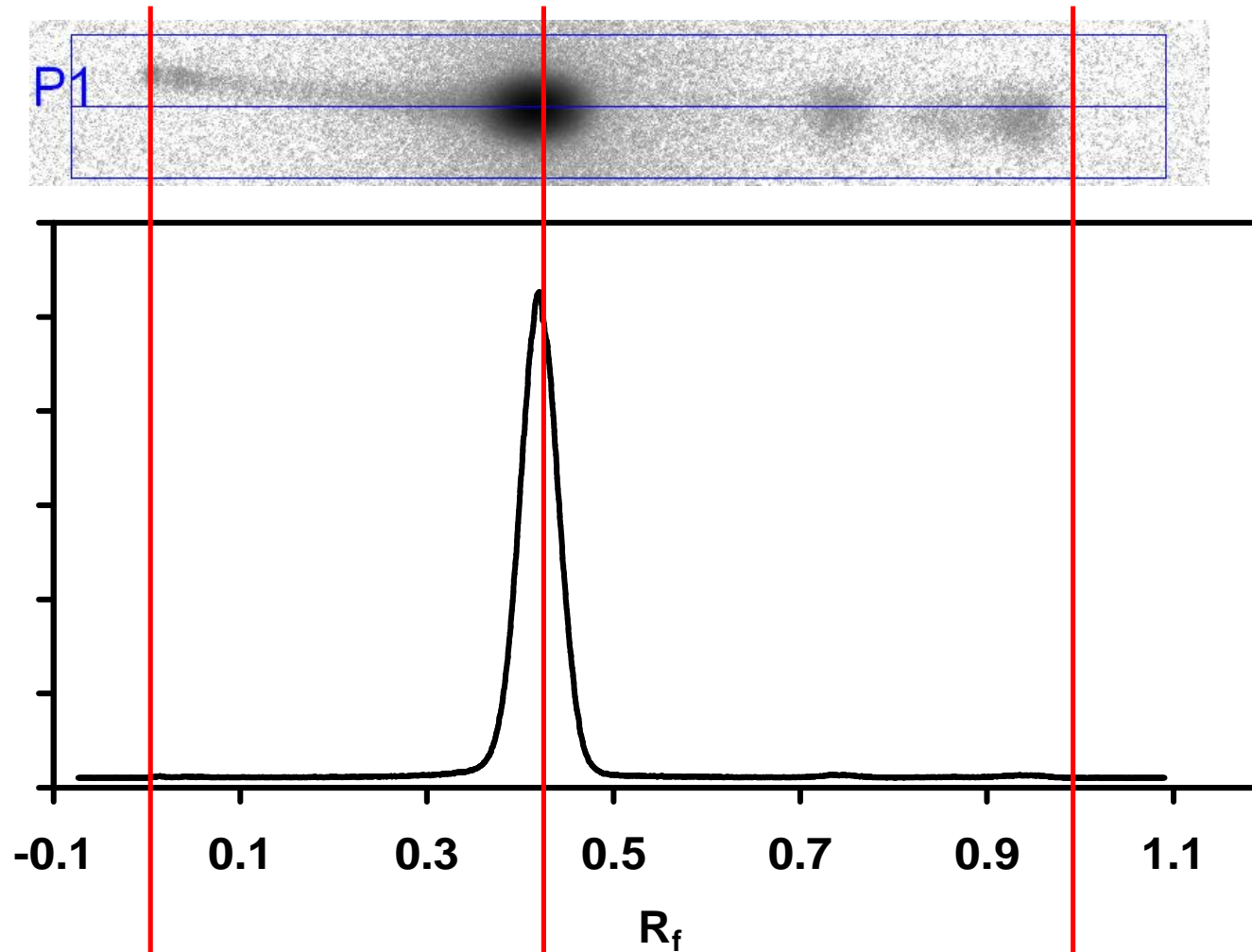
Työturvallisuus

- Työskenneltävä vetokaapissa jos käytetään orgaanisia ajoliuoksia
- Ajoliuokset hävitettävä asianmukaisesti
- Levyt hävitettävä asianmukaisesti

Validointi

- Tuotetoimittajien ohjeita on noudatettava
- Ohje on validoitava itse jos
 - tuotetoimittajan ohje on puutteellinen
 - muutat jotain parametria (levyä, ajoliuoksen kemikaaleja jne.)
 - epäilet käyttämäsi ohjeen toimivuutta

[¹⁸F]FDG:n laatukontrolli:



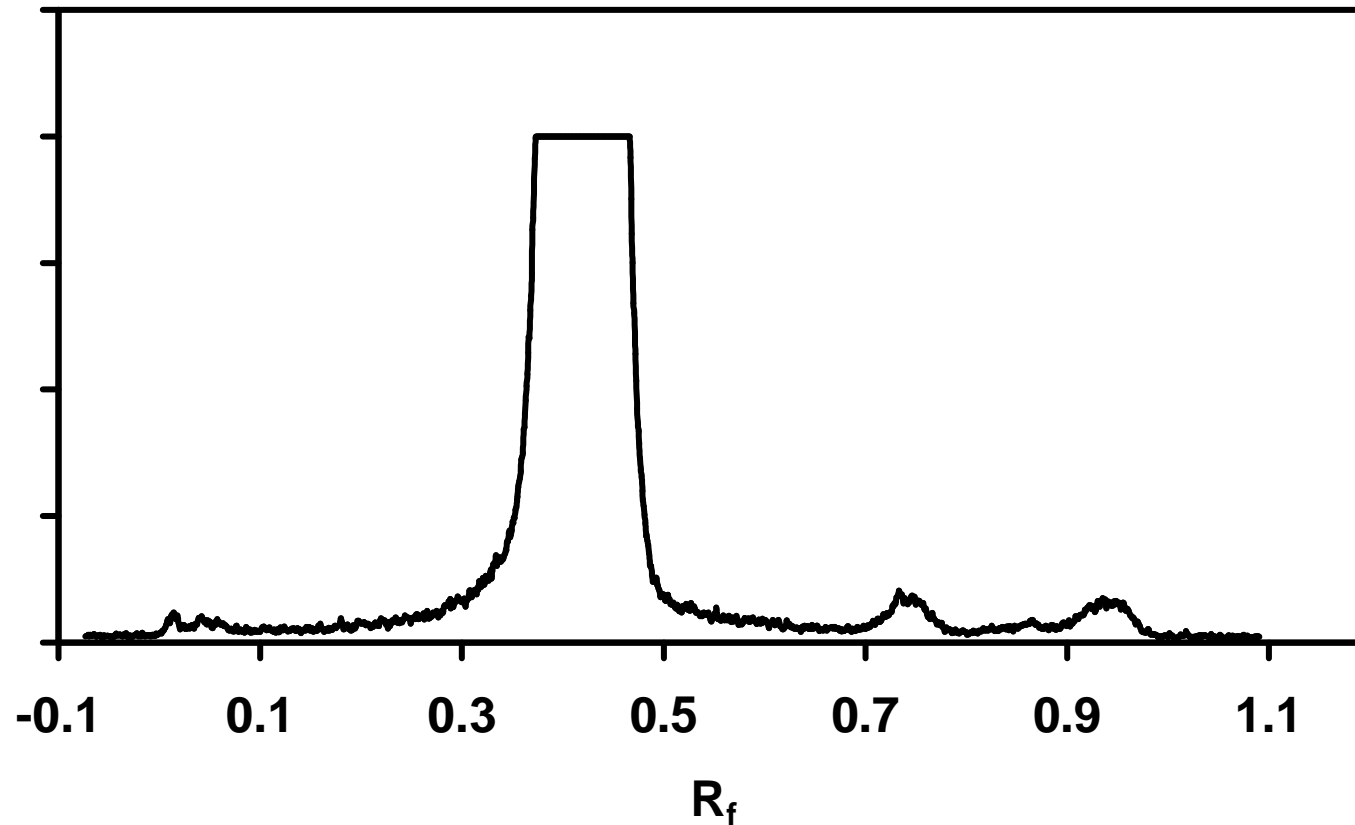
Radiokemiallinen puhtaus 99 %

M. Haaparanta-Solin 17.11.2006

Radiofarmasia

Varoittavia esimerkkejä

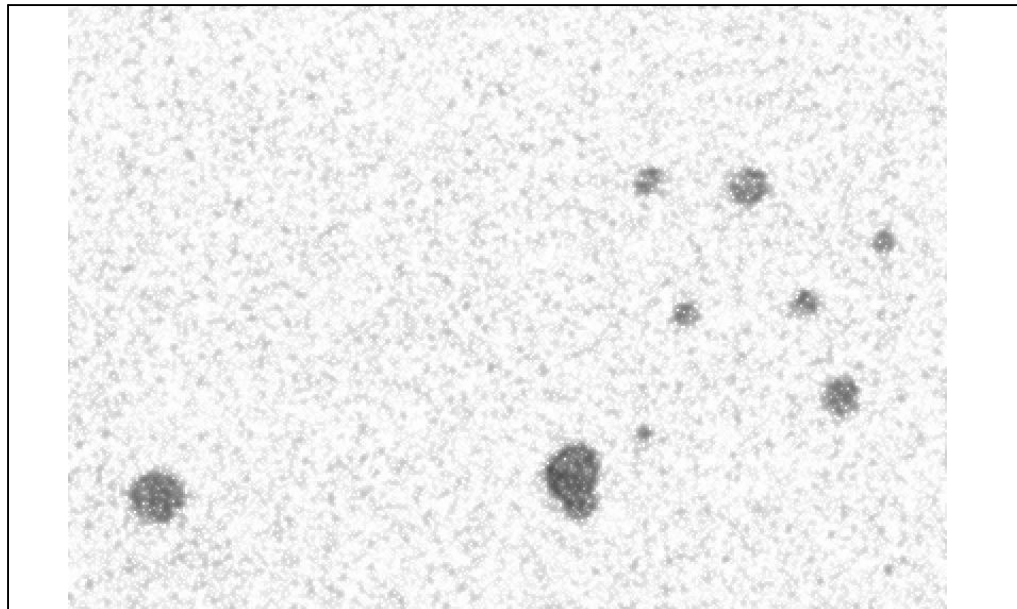
- Mittalaite menee ”tukkoon”



Radiokemiallinen puhtaus 90 %

Varoittavia esimerkkejä

- Roiskeet
- Kontaminaatiot, esim. sormenjäljet



TLC ja radioaktiivisuus

Menetelmän etuja:

- Yksinkertainen ja helppo
- Kvantitatiivinen
- Halpa
- Koko näyte on levyllä
- Herkkä (radioaktiivisuusdetekt. riippuen)