

УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП
ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ
СТУДИСКА ПРОГРАМА ПО ФАРМАЦЕВТСКИ НАУКИ



ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

**РАЗВОЈ И ВАЛИДАЦИЈА НА НОВ МЕТОД ЗА СИНТЕЗА НА НАТРИУМ [¹⁸F]
ФЛУОРИД [¹⁸F]NaF РАДИОФАРМАЦЕВТИК**

**DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A NEW METHOD OF SYNTHESIS OF
SODIUM FLUORIDE [¹⁸F]NAF RADIOPHARMACEUTICAL**

м-р Марија Атанасова Лазарева

Штип, декември 2022 г.

Комисија за утврдување на подобноста на темата

Претседател проф. д-р Бистра Ангеловска,
редовен професор,
Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип

Член проф. д-р Биљана Ѓорѓеска,
редовен професор,
Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип

Член проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска,
редовен професор,
Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип

Членови на Комисија за оценка и одбрана за докторска дисертација

Интерен ментор проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска,
редовен професор,
Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип

Екстерен ментор проф. д-р Ана Угринска,
вонреден професор,
Медицински факултет – Скопје,
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ – Скопје

Претседател проф. д-р Бистра Ангеловска,
редовен професор,
Факултет за медицински науки
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип

Член проф. д-р Катарина Смилков,
вонреден професор,
Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип

Член проф. д-р Марија Главаш-Додов,
редовен професор,
Фармацевтски факултет,
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ - Скопје

Научно поле Фармација

Научна област Радиофармација

Датум на одбрана 23.02.2023

Датум на промоција _____

Благодарност

Посебна благодарност до мојот интерен ментор, проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска, за несебичната професионална и академска поддршка, за помошта и ангажираноста од почетокот на ова поглавје, за поттикнување на мојата иницијативност, како и за посветеноста за време на изведбата на трудот.

Огромна благодарност до мојот екстерен ментор, проф д-р Ана Угринска, за целокупната поддршка и помош, како и за дадената можност за реализација на истражувачкиот дел од докторската дисертација во Универзитетски институт за позитронско-емисиона томографија, користејќи ресурси и потрошни материјали на Институтот.

Благодарност до моите соработници од Одделот за производство на Универзитетски институт за позитронско-емисиона томографија, за несебично укажаната помош и поддршка при изведбата на оваа докторска дисертација.

Благодарност до мојот сопруг и родителите за поддршката и разбирањето кои ми беа многу потребни и без што не би можела да го реализирам овој труд.

Оваа дисертација ја посветувам на син ми Христијан!

Рецензирани и објавени трудови

1. Atanasova Lazareva, M., Ugrinska, A., Janevik-Ivanovska, E. (2022). Research on the influence of different types of anion-exchange cartridges on the quality of [18f]naf radiopharmaceutical as part of production process development. KNOWLEDGE - International Journal, 54(4), 661–667. ISSN: 2545-4439 (Online), 1857-923X (Printed);
2. Marija Atanasova Lazareva, Katerina Kolevska, Maja Chochevska, Maja Velickovska, Filip Jolevski, Ana Ugrinska, Emilija Janevik-Ivanovska (2022). Aseptic process validation of [18F]Sodium Fluoride radiopharmaceutical in-house production. Mac.Pharm.Bull. 2022; 68(1) ISSN: 1857-8969 (Online), 1409 – 8695 (Printed).

РАЗВОЈ И ВАЛИДАЦИЈА НА НОВ МЕТОД ЗА СИНТЕЗА НА НАТРИУМ [¹⁸F] ФЛУОРИД [¹⁸F]NaF РАДИОФАРМАЦЕВТИК

Краток извадок

[¹⁸F]Натриум флуорид ([¹⁸F]NaF) е радиофармацевтик за парентерална интравенска администрација кој се користи во нуклеарната медицина за визуализација на скелетен систем и микрокалцификати, со позитронско емисиона томографија (ПЕТ). [¹⁸F]NaF се произведува со прочистување на флуорид-18 од озрачената вода преку адсорпција и десорпција од анјон-изменувачки кертриџ. Оваа студија го прикажува развојот на нов метод за синтеза и делење на дози со модул Clío, првично дизајниран за делење на радиофармацевтски препарати. За таа цел беше направена модификација на китот за делење на дози, но и оптимизација на производствениот процес тестирајќи го повеќекратно, прво без, а потоа и со радиоактивност. На китот за делење на дози дополнително беа инсталирани Y-конектор и анјон-изменувачки кертриџ. Како дел од развојот на производствениот процес беа изведени мануелни и полуавтоматски производства. Беше испитано влијанието на повеќе типови анјон-изменувачки кертриџи, комбинација на катјон-изменувачки и анјон-изменувачки кертриџи и волуменот на физиолошки раствор потребен за елуција. За да се докаже микробиолошката безбедност на [¹⁸F]NaF произведен во асептични услови беа спроведени валидација на асептичен процес и валидација на постапката за чистење. Студијата на стабилност беше изведена со цел да се утврди рокот на траење и да се оцени квалитетот на [¹⁸F]NaF во дефиниран временски период. Докажано е дека радиофармацевтскиот препарат [¹⁸F]Натриум флуорид е физичко-хемиски и микробиолошки стабилен, до 10 часа по завршување на синтезата. Оваа студија потврди дека оригинално дизајнираниот процес на производство на [¹⁸F]Натриум флуорид може да се спроведе под асептични услови, произведувајќи радиофармацевтик со квалитет што ги исполнува критериумите дефинирани во монографијата на Европската фармакопеја.

Клучни зборови: [¹⁸F]NaF, произведен процес, ПЕТ, валидација, квалитет

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A NEW METHOD OF SYNTHESIS OF SODIUM FLUORIDE [¹⁸F]NAF RADIOPHARMACEUTICAL

Abstract

[¹⁸F]Sodium fluoride radiopharmaceutical is a sterile solution for intravenous administration, intended for visualization of the skeletal system and microcalcification by positron emission tomography (PET). [¹⁸F]NaF is commonly produced by recovering fluoride-18 from irradiated enriched water via adsorption and desorption from an anion exchange resin. This research reports the development of an in-house method for the preparation and dispensing of [¹⁸F]NaF performed with Clio, a module designed only for dispensing of radiopharmaceuticals. For that purpose, the modification of the dispensing kit and optimization of the process with cold and hot tests were done. On the dispensing kit, the Y-connector and anion-exchange cartridge were installed. As part of the process development of the in-house production method, manual and semi-automatic productions were performed. The influence of different anion-exchange cartridges, a combination of cation-exchange and anion-exchange cartridges, and the volume of saline for elution were investigated. To ensure the microbiological safety of [¹⁸F]NaF produced under aseptic conditions, validation of the aseptic production and cleaning validation were conducted. The stability study was performed in order to establish the shelf life and evaluate the quality of [¹⁸F]NaF during a definite period of time. It has been proven that [¹⁸F]Sodium fluoride radiopharmaceutical preparation is physiochemically and microbiologically stable, up to 10 hours after the end of synthesis. This study confirmed that the originally designed and in-house developed production process of [¹⁸F]Sodium fluoride can be carried out under aseptic conditions, producing radiopharmaceutical with quality that meets the acceptance criteria defined in the European Pharmacopoeia monograph.

Key words: *PET, [¹⁸F]NaF, modification, production process, validation, quality*

Кратенки

- [¹⁸F]Fluoride - [¹⁸F]Флуорид
- [¹⁸F]NaF - [¹⁸F]Натриум флуорид
- 0,9 % NaCl - saline solution - физиолошки раствор
- A - analyte - примерок за анализа
- AUC - area under curve - површина под крива
- BPT - bubble point test - тест за интегритет на филтер
- Bq - becquerel - бекерел
- Ci - Curie - кири
- d.c. - decay corrected - коригиран за радиоактивен распад
- EOB - EOB - end of bombardment - крај на озрачување
- EOS - EOS - end of synthesis - крај на синтеза
- GBq - gigabecquerel - гигабекерели
- GMP - ДПП - Good Manufacturing Practice - Добра производна пракса
- GPT - Growth promotion test - тест за промоција на раст на микроорганизми
- HEPA - High Efficiency Particulate Air filter - филтри со висока ефикасност за филтрирање
- HPLC - High Performance Liquid Chromatography - високоефективна течна хроматографија
- IAEA - МААЕ - International Atomic Energy Agency - Меѓународната агенција за атомска енергија
- ICH - The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use - Меѓународна конференција за усогласување на техничките барања за регистрација на лекови за хумана употреба
- MBq/mL - мегабекерел/милилитар
- MeV - Megaelectronvolt - мегаелектронволт
- mL - Milliliter - милилитар
- μm - micrometer - микрометар
- h - hour - час
- n.d.c. - not decay corrected - некоригиран за радиоактивен распад
- PET - ПЕТ - Positron Emission Tomography/ Позитронско емисиона томографија

- PET/CT - ПЕТ/КТ - Positron Emission Tomography with Computer Tomography - Позитронско емисиона томографија во комбинација со компјутерска томографија
- CT - КТ - Computer Tomography / Компјутерска томографија
- QC - Quality control - контрола на квалитет
- Rt - retention time - ретенционо време
- St - standard solution - стандарден раствор
- $t_{1/2}$ - half-life - период на полураспаѓање
- TLC - Thin Layer Chromatography - тенкослојна хроматографија
- WHO - World Health Organization - Светска здравствена организација
- EMA - European Medicines Agency - Европската агенција за лекови
- MBq - megabecquerel - мегабекерел
- TSB-ST - Tryptase soy broth - течен медиум од мешавина на пептони
- Bar - бар - единица мерка за притисок
- RW - recovery water - отпадна вода
- QMA - Quaternary methyl ammonium cartridge - кватернерен амониум анјон-изменувачки кертриџ
- SCX - Strong cation exchange cartridge - силен катјон-изменувачки кертриџ
- IU/mL - интернационални единици на милилитар

СОДРЖИНА

1. ВОВЕД	1
2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА	3
2.1. [¹⁸ F]NaF радиофармацевтик.....	3
2.1.1. Фармаколошки аспекти	4
2.1.2. Механизам на акумулација	5
2.1.3. Биодистрибуција	5
2.1.4. Клиничка примена.....	6
2.2. Производство и контрола на квалитет на радиофармацевтски препарати	8
2.2.1. Просторни капацитети за производство на радиофармацевтски препарати	9
2.2.2. Производство на радиофармацевтски препарати	11
2.2.3. Контрола на квалитет на радиофармацевтски препарати	14
2.3. Валидација на постапка за чистење на опремата за производство на радиофармацевтски препарати	17
2.4. Асептична валидација на процесот на производство на радиофармацевтик	19
2.5. Студија на стабилност на радиофармацевтик.....	20
2.6. Производство на [¹⁸ F]NaF радиофармацевтик.....	21
3. ЦЕЛ НА ТРУДОТ	24
4. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ	25
4.1. Материјали.....	25
4.1.1. Материјали за производство на [¹⁸ F]F ⁻ радиоизотоп.....	25
4.1.2. Материјали за производство на [¹⁸ F]NaF радиофармацевтик.....	25
4.1.3. Материјали за контрола на квалитет на [¹⁸ F]NaF радиофармацевтик	26
4.1.4. Опрема	26

4.2. Методи	29
4.2.1. Методи во производство	29
4.2.2. Методи во контрола на квалитет	42
4.2.3. Метод за изведба на валидација на постапката на чистење на опремата за производство на [¹⁸ F]NaF	47
4.2.4. Метод за изведба на асептична валидација на процесот на производство на [¹⁸ F]NaF	50
4.2.5. Метод на изведување на студија на стабилност	53
5. РЕЗУЛТАТИ	55
5.1. Производство на радиоизотоп [¹⁸ F]F ⁻	55
5.2. Влијанието на разни типови на анјон-изменувачки кертрици врз приносот и квалитетот на [¹⁸ F]NaF радиофармацевтик	57
5.3. Влијание на катјон-изменувачки кертриц врз квалитетот на [¹⁸ F]NaF радиофармацевтик	75
5.4. Волумен на физиолошки раствор за елуција	102
5.5. Валидација на постапката за чистење	104
5.6. Асептична валидација на процес на производство на [¹⁸ F]NaF	106
5.7. Студија на стабилност	112
6. ДИСКУСИЈА	131
7. ЗАКЛУЧОК	144
8. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА	146

1. ВОВЕД

Радиофармацевтски препарати се фармацевтски препарати кои кога се подготвени за употреба, содржат еден или повеќе радиоактивни изотопи за медицинска примена (Ph. Eur. 10.0, 2016). Радиофармацевтските препарати се наменети за дијагностицирање, одредување стадиум на болеста, следење на третманот или за терапевтски цели (USP-NF 2021).

Позитронско-емисионата томографија (ПЕТ) е високосензитивна техника за визуализација во нуклеарната медицина која овозможува неинвазивно *in vivo* следење на метаболички процеси на молекуларно ниво (Gambhir, 2002, Miele et al., 2008, Visioni and Kim, 2011, Jacobson et al., 2012, Jabeen et al., 2019 и Cook and Goh, 2020). Оваа техника се базира на апликација и детекција на биодистрибуцијата на ПЕТ-радиофармацевтик (Ametamey et al., 2008 и Piel et al., 2014). ПЕТ-радиофармацевтик е биолошки активна супстанција обележана со позитронски радионуклид (радиоактивен изотоп). Радионуклиди/радиоизотопи се елементи кои содржат нестабилни јадра кои спонтано се распаѓаат и преминуваат во стабилна состојба или поминуваат во уште една нестабилна комбинација на протони и неутрони, притоа емитирајќи одреден тип на зрачење. Период на полураспаѓање ($t_{1/2}$) е времето за кое радиоактивноста се распаѓа на половина од почетната вредност. Кога радионуклидот е богат со протони се распаѓа со емисија на позитрон (антиматерија на електронот). Како резултат на колизија помеѓу емитираниот позитрон од радионуклидот и електрон од клетките (реакција на анихилација) се создаваат два гама (γ) зрака под агол од 180° кои се детектираат со ПЕТ-скенер.

$[^{18}\text{F}]$ Натриум флуорид - $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ е ПЕТ-радиофармацевтски препарат кој се користи за визуализација на скелет (Ahuja et al., 2020). Според дефиницијата дадена во Европската фармакопеја, $[^{18}\text{F}]$ Натриум флуорид раствор за инјектирање е стерилен раствор кој содржи ^{18}F (флуор-18) радиоизотоп во форма на натриум флуорид. Во почетокот на шеесеттите години од минатиот век, $[^{18}\text{F}]$ Натриум флуоридот е воведен како радиофармацевтски препарат, но поради техничкото ограничување на конвенционалните гама камери и нивната мала достапност, како и пониската цена на $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -метилен дифосфонат ($[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MDP}$), радиофармацевтикот бил заменет со $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MDP}$ (Blake et al., 2001). Воведувањето на позитронско-емисионата томографија како модалитет

за визуализација и недостатокот на генератори ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$, на почетокот на 2000 година доведе до повторен интерес за примена на ^{18}F NaF радиофармацевтик (Grant et al., 2008).

Производството на радиофармацевтски препарати бара посебно внимание поради природата на јонизирачкото зрачење, како и асептичните услови кои треба да бидат задоволени при процесот на производство на стерилни медицински производи.

Производството на ^{18}F NaF радиофармацевтик се одвива во четири чекори:

- производство на радиоизотоп $^{18}\text{F}\text{F}^-$;
- прочистување на произведениот радиоизотоп $^{18}\text{F}\text{F}^-$ со анјон-изменувачки кертриџ за цврсто фазна екстракција;
- промивање на кертриџот со стерилна вода;
- елуција на задржаниот $^{18}\text{F}\text{F}^-$ со физиолошки раствор (0,9 % NaCl).

Од достапните литературни податоци, синтезата на ^{18}F NaF е воспоставена на различни модули за синтеза со користење на различни потрошни материјали или готови китови за еднократна употреба.

Во оваа докторска дисертација се предлага метод за производство на ^{18}F NaF радиофармацевтик раствор за инјектирање со апарат за делење на дози Clio (Comeseg S.p.A), кој претставува специјализиран модул за делење на дози на радиофармацевтски производи. Со модификација на китот кој се користи за делење на дози се овозможи развој на нов метод за синтеза и делење на дози, како еден последователен процес со користење на истиот апарат во една иста серија. Произведениот радиофармацевтик ^{18}F NaF ги исполнува критериумите на прифатливост дадени во спецификацијата за квалитет, која е дефинирана врз основа на барањата за квалитет во монографијата за ^{18}F NaF раствор за инјектирање во Европската фармакопеја (Ph. Eur 01/2008:2010), во однос на: физички, хемиски и биолошки тестови. Новоразвиениот едноставен и брз метод за производство на радиофармацевтикот ^{18}F NaF може да биде применет за рутинско производство и во други ПЕТ-центри со производни капацитети.

2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

2.1. [¹⁸F]NaF радиофармацевтик

[¹⁸F]Натриум флуорид ([¹⁸F]NaF) е радиофармацевтик за парентерална интравенска администрација, којшто се користи во нуклеарната медицина за визуализација на скелетен систем и микрокалцификати со позитронско емисиона томографија (Rohren et al., 2015 и Even-Sapir et al., 2007). Причините за интерес за радиоизотопот флуор-18 ([¹⁸F]F) во форма на [¹⁸F]Натриум флуорид се поврзани со физичките и нуклеарните карактеристики на радиоизотопот: период на полураспаѓање 109,8 минути, 97 % од распаѓањето резултира со емисија на позитрон со максимална енергија од 633 keV (Saha, 2004).

Метастазите во коските се чест извор на малигнитет во скелетот и се јавуваат многу почесто од примарните коскени тумори (Coleman, 2006, Hage et al., 2000 и Wu et al., 2021). Од сите примарни неоплазми, туморите на дојка и простата имаат најголема веројатност да метастазираат во коските, а следни се туморите на тироидната жлезда, бубрезите и белите дробови (Bastawrous et al., 2014, Langsteger et al., 2016 и Fornetti et al., 2018). Точната дијагноза на метастази на коските е исклучително важна за планирање и следење на ефектите од терапијата, како и за предвидување на преживувањето на пациентите (Ahuja et al., 2020). Радиофармацевтот [¹⁸F]Натриум флуорид, освен во онкологијата, во последната деценија наоѓа примена и во кардиологијата за визуализација на кардиоваскуларни микрокалцификати (Tzolos and Dweck, 2020 и Kwiecinski et al., 2021).

Радиофармацевтот [¹⁸F]NaF е воведен за визуализација на метастази на коски уште во 1962 година (Blau et al., 1962). Во 1972 година е одобрен за употреба од страна на Американската агенција за храна и лекови (Food and Drug Administration - FDA), но три години подоцна истиот е повлечен од употреба, кога радиофармацевтот [^{99m}Tc]Tc-MDP (^{99m}Технециум метил дифосфонат) поради пониската цена и како полесно достапен SPECT радиофармацевтик стана широко употребуван (Vallabhajosula et al., 2011). Во 70-тите години на минатиот век радиофармацевтот [¹⁸F]NaF е заменет со [^{99m}Tc]Tc-MDP (^{99m}Технециум метил дифосфонат) поради поголемата достапност на генератори и готови

ладни китови за подготовка на $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-MDP}$. Со воведување на позитронско-емисиона томографија во комбинација со компјутерска томографија (ПЕТ/КТ) како систем за визуализација и дополнително, поради недостиг на производство на молибден-99, како радионуклид родител во технециумските генератори, се зголеми интересот за клиничка примена на ПЕТ-радиофармацевтикот $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ (Ballinger, 2010, Ruth, 2020 и Gonzalez-Galofre et al., 2021). Во 1994 година радиофармацевтикот е одобрен за употреба од страна на Европската агенција за лекови (EMA). Во 2000 година повторно е одобрен за клиничка употреба од страна на FDA, а во 2011 година FDA ја одобри апликацијата за нов лек (New drug application, NDA) за производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ (Vallabhajosula et al., 2011 и Ahuja et al., 2020).

2.1.1. Фармаколошки аспекти

Според анатомско-терапевтската класификација (АТЦ), кодот на $[^{18}\text{F}]\text{Натриум флуорид}$ е: V09IX06

(https://www.whocc.no/atc_ddd_index/?code=V09IX06)

V: Разно (Various)

V09: Радиофармацевтици за дијагностика - Diagnostic radiopharmaceuticals

V09I: Детекција на тумори - Tumour detection

V09IX: Други радиофармацевтски препарати за детекција на тумори - Other diagnostic radiopharmaceuticals for tumour detection

V09IX06: $[^{18}\text{F}]\text{Натриум флуорид}$

Максимална дозволена количина на флуорид (F^-) е 4,25 mg на максимална препорачана доза во милилитри (Ph.Eur. 10.0, 01/2008:2100, 2020).

Во Република Северна Македонија просечната концентрација на флуорид во водата е 0,3 mg/L (Министерство за здравство, 2010). Акутна експозиција на натриум флуорид може да предизвика несакани ефекти како што се: гадење, повраќање, абдоминални болки, дијареја, конвулзии, респираторни проблеми, па дури и смрт. Леталната доза на флуорид за возрасен е во опсег од 70 - 140 mg флуорид / kg телесна тежина. Акутната доза од 5 mg флуорид / kg телесна тежина е минималната доза која може да доведе до појава на несакани ефекти (WHO, 2000).

Радиофармацевтските препарати за дијагностички цели се користат во многу ниски концентрации од редот на микродоза коишто не покажуваат фармаколошка активност (EMA/CHMP, 2018). При апликација на доза од 400 MBq [^{18}F]NaF, максималната доза на флуорид којашто пациентот може да ја прими е околу 13 ng, што е занемарлива количина во споредба со дозволеният дневен внес на флуорид (Isologic Innovative Pharmaceuticals Ltd., 2014). Поради овој факт, односно малата количина на флуорид којашто може да биде внесена при апликација на [^{18}F]NaF раствор за инјектирање, фармаколошки студии за безбедноста не се изведени.

2.1.2. Механизам на акумулација

Механизмот на акумулација на [^{18}F]NaF радиофармацевтик е сличен со оној на [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc-MDP, но со подобра фармакокинетика, побрз клиренс и поголемо преземање во коските (Segall et al., 2010, Bastawrous et al., 2014 и Ahuja et al., 2020). Околу 50 % од инјектираната доза на [^{18}F]NaF веднаш се акумулира во коските, 30 % од дозата се акумулира во црвените крвни клетки, а остатокот од радиофармацевтикот брзо се елиминира преку бубрезите (Beheshti et al., 2015 и Sarikaya et al., 2017). Еден час по инјектирање остануваат околу 10 % од почетната радиоактивност, што овозможува многу висок контраст помеѓу местото на коскената акумулација како специфична акумулација и основната циркулирачка активност (signal to background ratio). Радиофармацевтикот [^{18}F]NaF е маркер на крвниот проток и остеобластната активност во коските (Beheshti et al., 2015). Лимитирачкиот фактор за преземањето на [^{18}F]NaF од страна на коските е протокот на крв (Wong et al., 2013). Акумулацијата на [^{18}F]NaF е со хемисорпција на [^{18}F]F⁻ на хидроксиапатитот. По хемисорпција на хидроксиапатитот, [^{18}F]F⁻ флуоридот брзо се разменува со хидроксидните групи на површината на хидроксиапатитната матрица ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{H}_2\text{O}$), формирајќи флуороапатит ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) (Blau et al., 1972 и Czernin et al., 2010).

2.1.3. Биодистрибуција

Биодистрибуцијата на [^{18}F]NaF растворот за инјектирање зависи од диференцијалниот регионален проток во целните органи. Примарни целни

органи за акумулација на радиофармацевтикот се скелетот и мочниот меур (Grant et al., 2008). Генерално, радиофармацевтикот $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ покажува униформна дистрибуција во коските. Нехомогена дистрибуција на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ кај возрасните може да се забележи како резултат на разликите во регионалниот проток на крв и површината на хидроксиапатитот. Кај деца и адолесценти е забележано интензивно и симетрично навлегување на радиофармацевтикот во метафизата. Главниот пат на елиминација на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ раствор за инјектирање е преку бубрезите, како резултат на што се овозможува визуализација на бубрези, уретер и мочен меур. Интензитетот на визуализација во уринарниот тракт зависи од бубрежната функција, хидратацијата на организмот и интервалот помеѓу времето на инјектирање на радиофармацевтикот и скенирањето. Хиперемии во меките ткива може да предизвика зголемена акумулација во истите. Активните склеротични лезии предизвикуваат зголемено дифузно навлегување. Остеолитичка лезија или лезија со минимална остеобластна активност може да покаже променливо ниво на акумулација, од минимална акумулација којашто тешко се детектира до интензивна акумулација. Сепак, механизмот на акумулација на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ не е ограничен само на неопластични процеси, бидејќи секој процес, бенигнен или малиген, којшто предизвикува реконструкција на коските и зголемен метаболизам ќе покаже зголемена акумулација на радиофармацевтикот (Ahuja et al., 2020).

2.1.4. Клиничка примена

Во последните 20 години употребата на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ за дијагностички цели е потврдена во многу клинички студии (Langsteger et al., 2006, Even-Sapir et al., 2006, Kurdziel et al., 2012, Cook, 2013, Lee et al., 2019 и Park et al., 2021). Директната споредба на радиофармацевтиците $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-MDP}$ и $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$, користени за визуализација на скелетниот систем, покажала дека $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ има многу поголема точност при диференцијација на малигни од бенигни болести на коските (Fogelman et al., 2005, Krüger et al., 2009, Igaru et al., 2012 и Hillner et al., 2014). Радиофармацевтикот $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ наоѓа клиничка примена и за дијагноза на скелетни бенигни абнормалности, како што се болка во грбот кај деца, адолесценти и млади спортисти (Coady and Micheli, 1997 и Kairemo and Masarinas, 2020). Кај околу 80 % од пациентите со канцер на простата се

забележани метастази во коските, коишто се водечка причина за негативен исход (Langster et al., 2016). Токму метастазите на коските може да предизвикаат сериозни ендокринолошки, хематолошки, невролошки и ортопедски компликации, проследени со неподнослива болка (Coleman, 1997, 2001). Навремената дијагноза на коскените метастази претставува круцијален чекор при планирање на терапијата.

$[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтикот во последните години сè повеќе се користи и за визуализација на кардиоваскуларни микрокалцификати. Калцификацијата е клучен белег на атеросклерозата, срцевата валвуларна болест и периферната васкуларна болест. Механизмот на формирање на калцификати е многу сличен со начинот на депонирање на калциум при формирање на коските. Хидроксиапатитот е клучниот фактор за формирање на калцификати. До неодамна компјутерска томографија (КТ) беше единствениот достапен неинвазивен модалитет за визуализација на калцификати. Со КТ може да се детектираат големи макроскопски наслаги на калциум (Creager et al., 2019). Примената на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтикот овозможува квантитативен начин на визуализација на калцификатната активност во васкуларниот систем, со употреба на позитронско-емисиона томографија во комбинација на КТ или магнетна резонанца. Со овој начин на визуализација се овозможува детекција на почетните фази на микрокалцификација, кога процесот на калцификација е активен и терапевтската интервенција може да биде поефикасна (Irkle et al., 2015, Pawade et al., 2016 и Kitagawa et al., 2018).

Механизмот на акумулација на радиофармацевтикот $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ во васкуларните калцификати е ист со оној во коските. Протоколот на крв во васкуларниот систем е константен, затоа главниот фактор кој влијае на акумулацијата на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ е површината на хидроксиапатитот. Во споредба со масивните макроскопски наслаги, а поради големата површина на хидроксиапатит во регионите со прашкаста ситна микрокалцификација, акумулацијата на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ е највисока токму во регионите на микрокалцификација (Hawkins et al., 1992). За разлика од другите ПЕТ-радиофармацевтици, $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ покажува многу ниска акумулација во миокардот, што овозможува јасна визуализација на активната калцификација во срцето (Doris et al., 2020).

2.2. Производство и контрола на квалитет на радиофармацевтски препарати

Имајќи предвид дека производствениот процес на радиофармацевтските препарати бара специфични услови за работа во поглед на радијациска заштита, и дополнително, фактот што најголем дел од радиофармацевтиците претставуваат парентерални препарати, се наметнува потребата од воспоставување на ефикасен систем за обезбедување на квалитет при производство на овие препарати, со соодветна обука на персоналот во однос на асептичните техники за работа и заштитата од јонизирачко зрачење (Fersing et al., 2021 и Gillings et al., 2021). При работа со извори на јонизирачко зрачење, потребни се објекти со соодветна заштита и специјална изведба, со цел да се спречи контаминација на животната средина од радиоактивните материјали коишто можат да бидат ослободени при производство или ракување со јонизирачки извори (IAEA, 2004, 2005). За да се намали ризикот од јонизирачкото зрачење, производството на радиофармацевтските препарати се врши во услови со негативен притисок, во специјално дизајнирани оловни кабинети, инсталирани во радиофармацевтски лаборатории за производство.

Освен специфичноста во поглед на радијациска заштита, производството на радиофармацевтски препарати е специфично поради потребата од примена на добра производна пракса - ДПП (Good manufacturing practice - GMP). Всушност, ДПП ги дефинира условите за производство на радиофармацевтски препарати во поглед на производство во класифицирани простории, инсталација на оловни кабинети со вентилација и HEPA филтри („high efficiency particulate air filter" – филтри со висока ефикасност на филтрирање) (EudraLex Annex 3, 2008). Со цел да се минимизира микробиолошката контаминација за време на производството, сите фази на производство треба да се изведуваат во класифицирани простории (EudraLex Annex 1, 2022). Со оглед на фактот што најголемиот дел радиофармацевтски препарати се парентерални дозирани форми, потребно е да се применат асептични услови за производство на стерилни медицински производи (EudraLex Annex 3, 2008, PIC/S Guide PE 009-16 Annex 3, 2022). Дополнително, за производство на радиофармацевтски препарати потребен е персонал со соодветно образование, обуки и искуство, неопходни за извршување на разновидни функции во процесот на производство

на радиофармацевтски препарати, кои се безбедни за хумана употреба и се во согласност со различни прописи (Gillings et al., 2021).

2.2.1. Просторни капацитети за производство на радиофармацевтски препарати

При планирање на просторните капацитети за производство на радиофармацевтски препарати, потребно е предвид да бидат земени следниве фактори:

- имплементација на основните барања на добрата производна пракса;
- заштита од јонизирачко зрачење и работа со радиоактивни материјали;
- производствени капацитети;
- целите на производната организација (Jacobson et al., 2002).

Во контекст на тоа, примената на контролиран пристап во одредени области, системи за меѓусебно блокирање и меѓупростори за пренос на материјали, треба да бидат интегрирани при дизајнот и изведбата на самиот објект (IAEA, 2009). Протоколот на материјали и персонал треба да биде соодветно дизајниран за да овозможи минимални вкрстувања на патеките на движење. На овој начин ќе се избегне потенцијална контаминација и ќе се постигне посакуваното ниво на заштита, како за вработените, така и за финалниот производ.

Просториите во објект за производство на ПЕТ-радиофармацевтски препарати се поделени на контролирани и неконтролирани простории.

- Неконтролирани простории

Неконтролираните простории ги опфаќаат помошните простории, односно непроизводствените делови од аспект на ДПП и просториите во кои нема јонизирачко зрачење. Неконтролирани простории се: административни канцеларии, простории за складирање, тоалети, технички простории за греење, вентилација и климатизација.

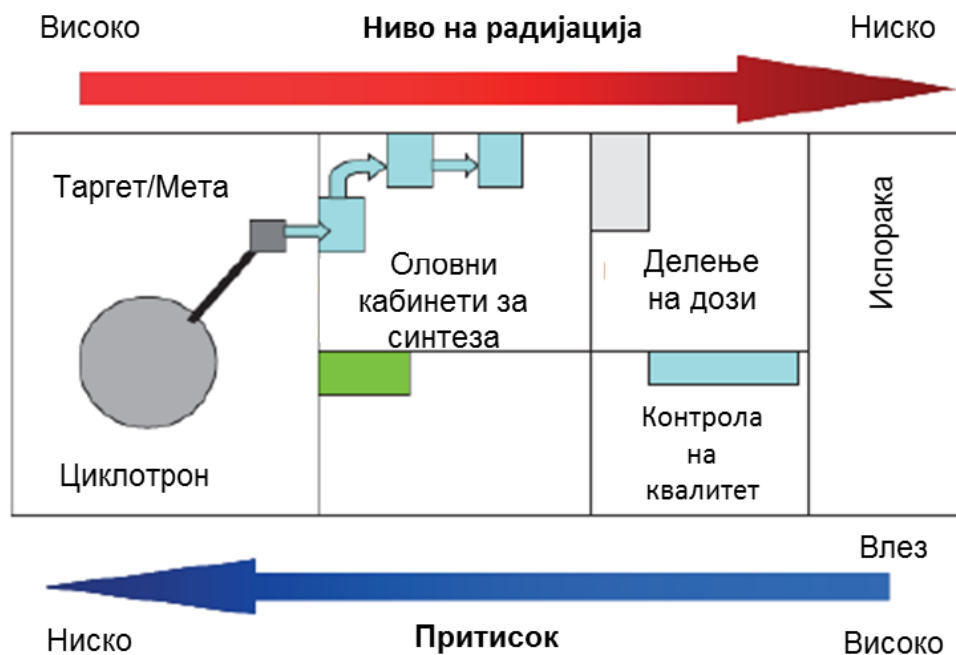
- Контролирани простории

Контролираните простории вклучуваат зони кои треба да се контролираат за да се задоволат барањата на ДПП и да се обезбеди заштита од јонизирачко зрачење. Контролираните простории се поделени на класифицирани (чисти соби) и неклассифицирани простории. Чист простор е простор со дефинирана

концентрација на честички и микробиолошка контаминација, кој е проектиран и се користи на начин со кој е намалено внесувањето, создавањето и задржувањето на контаминенти во просторот. Производствените класифицирани простории се одделени од неklasифицираните со воздушен пропусник - претпростор.

За дизајн на каскадите на притисок во радиофармацевтски оддел за производство, мора да се земат предвид два аспекти: барањата на ДПП и заштитата од јонизирачкото зрачење. Преку обезбедување заштита од јонизирачкото зрачење, првенствено се заштитува персоналот, односно работно изложените лица, така што се намалува дозата од јонизирачко зрачење што тие лица ќе ја примат. Истовремено, се заштитува и животната средина од испуштање на опасни радиоактивни материји. ДПП има тенденција да ги заштити фармацевтските производи од потенцијална контаминација од околината (IAEA, 2012). Поради ова, потребен е внимателен дизајн на каскадите на притисок за да се исполнат барањата и на двата прописа.

Првиот дел од производствениот процес е добивање на радиоизотоп со циклотрон. Циклотронот треба да биде инсталиран во просторија со најнегативен притисок. Оловните кабинети се следниот најголем ризик од радиоактивна контаминација и тие се секогаш дизајнирани да одржуваат негативен притисок во однос на просторијата во која се инсталирани. Класифицираните простории во кои се инсталирани оловните кабинети, треба да имаат повисок притисок во однос на околните помалку чисти простории. На таков начин се задоволуваат двете барања во однос на, радијациона сигурност на вработените и сигурност на финалниот производ (WHO, 2004). На слика 1 е прикажан пример на производствен дел во поглед на каскади на притисок и ниво на радиоактивно зрачење.



Слика 1. Шематски приказ на притисокот и нивото на радијација во простории за производство на ПЕТ-радиофармацевтски препарати

Figure 1. Schematic representation of the pressure and radiation level in the production of PET radiopharmaceuticals

2.2.2. Производство на радиофармацевтски препарати

За производство на ПЕТ-радиофармацевтски препарати, потребна е опрема за производството на радиоизотопи, радиофармацевтици и апарати за анализа на финалните производи. За производство на радиоизотопи позитронски емитери, најчесто се користи циклотрон, којшто е забрзувач на наелектризирани честици по кружна траекторија (Avila-Rodriguez et al., 2022 и Wang et al., 2022). За производство на радиофармацевтските препарати најчесто се користат модули за синтеза и модули/апарати за делење на поединечни дози на радиофармацевтици, коишто се инсталирани во соодветни оловни кабинети. Опремата за контрола на квалитет на финалниот производ се состои од разни типови апарати потребни за изведба на различни тестови за проценка на квалитетот на финалниот производ. Опремата треба да биде во согласност со ДПП препораките. Пред да се стави во употреба, целата опрема треба да биде квалификувана. (EudraLex Annex 15, 2015). Опремата за производство и контрола на квалитет треба да биде инсталирана во контролирани простории, коишто ги исполнуваат барањата на ДПП, како и барањата за заштита од

радијација, со цел да се задоволи регулаторната усогласеност со фармацевтската индустрија и безбедноста на персоналот (IAEA, 2004, Elsinga et al., 2010 и IAEA, 2012).

2.2.2.1. Оловни кабинети

Оловните кабинети се дизајнирани како изолатори, кои од една страна обезбедуваат заштита на радиофармацевтот од потенцијалната контаминација од околината, а од друга страна, обезбедуваат заштита на операторот од контаминација со радиоактивен материјал. Од безбедносни причини, притисокот во оловните кабинети треба да се одржува под притисокот во просторијата во која е инсталиран оловниот кабинет. Вообичаено, во оловните кабинети се инсталираат автоматизирани модули за синтеза, но може да се користат и за мануелна подготовка на радиофармацевтски препарати, обезбедувајќи соодветна заштита на операторот и радиофармацевтот (Todde et al., 2017). Генерално, во една производна лабораторија потребно е да има два одделни оловни кабинета: еден за синтеза и еден за делење на дози. Оловните кабинети за синтеза треба да обезбедат квалитет на воздух, минимум класа-С. Оловните кабинети за асептично делење на дози се опремени со преткомора - класа-В, за подготовка на материјали и комора - класа-А, каде се изведува асептичниот процес (IAEA, 2004).

2.2.2.2. Модули за синтеза

Поради големата брзина на доза која произлегува од големото количество на произведена радиоактивност, практично сите производствени лаборатории користат автоматски модули за синтеза на ПЕТ-радиофармацевтски препарати, инсталирани во соодветни оловни кабинети (Krasikova, 2007).

Автоматизиран модул за синтеза е уред способен да работи автоматски, со помош на секвенца потребна за синтеза на радиофармацевтскиот препарат. Секвенца е список на чекори/инструкции со кои софтверот ги извршува и контролира различните чекори за време на синтезата на еден радиофармацевтски препарат. Редоследот и бројот на чекори во самата секвенца е специфичен за секој процес на синтеза.

Автоматскиот модул за синтеза може да се подели на два дела: механички дел и хемиски дел. Механичкиот дел се состои од: склоп на електрични и/или пневматски, линеарни и/или кружни вентили, електрични напојувачи, пумпи, ладилници, грејачи, сензори за следење на различни параметри (температура, притисок, проток, радиоактивност) и други делови коишто не се во директен контакт со хемиските реагенси. Хемискиот дел е меѓусебно поврзана мрежа на шишенца во кои гасовити, течни и/или цврсти реагенси и прекурзори може да се пренесуваат, мешаат и/или модифицираат, со цел да се добие посакуваниот финален производ. Механичкиот и хемискиот дел се поврзани меѓусебно, а контактот помеѓу нив може да биде постојан (уред за повеќекратна употреба) или привремен (уред за еднократна употреба - „касета“). Контролниот систем го контролира автоматизираниот модул за синтеза и обезбедува кориснички интерфејс преку кој операторот комуницира со модулот. Софтверот управува со системот за контрола и е генерално специфичен за модулот, но не мора да е специфичен за процесот.

Касета (уред за еднократна употреба) претставува претходно поврзана мрежа од шишенца, вентили и шприцеви, наменета за монтирање на механичкиот дел од модулот за синтеза. Откако ќе биде монтирана на модулот, касетата станува хемиски дел од модулот (Boschi et al., 2013, Aerts et al., 2014, Todde et al., 2017 и Bruton et al., 2021).

2.2.2.3. Апарати за делење на дози

ПЕТ-центрите кои опслужуваат повеќе пациенти имаат потреба од поединечни дози. За ваквиот тип на активности, кога во текот на денот треба да се поделат поголем број на поединечни дози потребен е оловен кабинет, кој задоволува класа-А чистота на воздух. Во оловниот кабинет треба да има инсталиран апарат за автоматско или полуавтоматско делење на дози. Делењето на дози мора да биде во согласност со препораките за асептично работење. Најголемиот дел од апаратите за делење на дози, користат кит за еднократна употреба со 0,22 μm филтер за терминална стерилизација. Овие апарати многу често имаат вградена опција за автоматска изведба на тест за интегритет на филтер, веднаш по завршување со процесот на делење на дози (Elsinga et al., 2010).

2.2.3. Контрола на квалитет на радиофармацевтски препарати

Како и сите други, така и радиофармацевтските препарати, пред да бидат одобрени за употреба кај пациенти, подлежат на задолжителна контрола на квалитет. Вообичаено, ПЕТ-радиофармацевтските препарати се формулираат како стерилни, апиругени раствори за инјектирање, наменети за интравенска апликација, и како такви, истите треба да ги исполнуваат барањата за квалитет, дефинирани во општата монографија за парентерални препарати (Ph.Eur. 10.0, 04/2015:0520, 2020). Поради присуството на радиоизотоп, сама по себе, се наметнува потреба од воведување на дополнителни тестови за радионуклидна и радиохемиска идентификација и чистота, карактеристични само за радиофармацевтските препарати (Molavipordanjani et al., 2018 и Lodi and Boschi, 2017).

Контролата на квалитет на ПЕТ-радиофармацевтски производи треба да биде изведена во согласност со барањата од општата монографија за радиофармацевтски препарати, специфичните монографии од официјалните фармакопеи (доколку ги има) и националната регулатива.

Од една страна, контролата на квалитет на ПЕТ-радиофармацевтиците е специфична поради радиоактивноста и краткиот период на полураспаѓање на радиоизотопот, а од друга страна, поради времетраењето на некои од тестовите. За разлика од конвенционалните фармацевтски производи, радиофармацевтските препарати не можат да се произведуваат, потоа да се тестираат и да се остават во карантин додека не бидат достапни резултатите од сите тестови, бидејќи радиоизотопот ќе се распадне до ниво кога радиофармацевтскиот препарат ќе стане неупотреблив. Затоа, радиофармацевтските препарати во краток временски период треба да се произведат, да се тестираат за квалитет и потоа да се администрираат на пациентот. Бидејќи изведувањето на некои од тестовите трае подолго, не е задолжително овие тестови да се изведат пред одобрување на серијата. Дел од тестовите од монографијата задолжително се изведуваат пред одобрување на серијата за инјектирање на пациенти, додека останатите тестови се исто задолжителни, но се изведуваат по администрација на радиофармацевтикот. Во фармакопејата, во поединечните монографии на секој радиофармацевтик е

дефинирано кои тестови е дозволено да се завршат после одобрување на серијата за инјектирање.

Дополнително, поради присуството на извор на зрачење, потребно е да се задржат сите аспекти на заштита од радијација при вршењето на тестовите за контрола на квалитет на радиофармацевтските препарати.

Секоја лабораторија за контрола на квалитет треба да биде опремена со аналитички инструменти што овозможуваат изведба на тестовите дефинирани во спецификацијата за квалитет на радиофармацевтикот (Molavipordanjani et al., 2018 и Ph. Eur. 10.0, 07/2016:0125, 2020).

Во општата монографија за радиофармацевтски препарати се дефинирани следниве параметри за испитување на квалитетот на радиофармацевтикот:

- Идентификација

Идентификација на радионуклидот генерално се изведува со одредување на период на полураспаѓање на радионуклидот или со одредување на природата и/или енергијата на зрачење. Периодот на полураспаѓање на радионуклидот се одредува во дозен калибратор. Енергијата и природата на зрачење се одредува со спектрометрија (Ph.Eur 10.0, 01/2014:20266, 2020).

- Хемиска чистота

Се испитуваат нерадиоактивни супстанции кои може да се јават како онечистување во финалниот производ и резидуални растворувачи. Дозволената концентрација на резидуални растворувачи во финалниот примерок е дефинирана во општата монографија за Резидуални растворувачи (Ph. Eur. 10.0, 07/2018:50400, 2020).

- Радионуклидна чистота

Радионуклидните онечистувања може да се јават во финалниот производ. Потекнуваат од начинот на производството на радионуклидот или од неговиот распад. За да се одреди радионуклидната чистота на радиофармацевтски препарат, потребно е да се идентификува и квантифицира секој присутен радионуклид. Најчест метод за одредување на радионуклидната чистота кај радионуклиди кои се емитери на гама и X-зраци, е гама спектрометријата. Радионуклидните онечистувања и нивниот дозволен процент се дефинирани во индивидуалните монографии на радиофармацевтските препарати.

- Радиохемиска чистота

Радиохемиската чистота се дефинира како однос, изразен во проценти (%), помеѓу радиоактивноста на радиоизотопот во посакуваната хемиска форма и вкупната радиоактивност на радиоизотопот во примерокот. Радиохемиските онечистувања може да потекнуваат од производството на радионуклидот или радиофармацевтикот или од хемиска декомпозиција на радиофармацевтикот во текот на чувањето. За одредување на радиохемиската чистота, потребно е да се раздвојат различните хемиски форми што го содржат радионуклидот и да се одреди процентот на нивна застапеност во финалниот производ (Li et al., 2011). За таа цел може да се користат различни техники за раздвојување, како на пример, тенкослојна хроматографија, гасна, течна или гел хроматографија, или пак, електрофореза.

- Специфична радиоактивност

Специфичната радиоактивност се одредува земајќи ја предвид радиоактивната концентрација и концентрацијата на посакуваната хемиска форма.

- Физиолошка дистрибуција

Испитувањата за физиолошка дистрибуција на животни треба да се избегнуваат секогаш кога е можно. Во индивидуалните монографии се наведени деталите за изведување на испитувањето, како и барањата за физиолошка дистрибуција кои треба да бидат исполнети.

- Стерилност

Радиофармацевтските препарати за парентерална администрација мора да бидат стерилни. Тие мора да бидат подготвени на начин кој ќе спречи микробиолошка контаминација и ќе обезбеди стерилност на финалниот производ. Тестот за стерилност се изведува како што е наведено во општата монографија за биолошки тестови, 2.6.1 Стерилност (Ph. Eur. 10.0, 04/2011:20601, 2020).

- Бактериски ендотоксини - пирогени

Радиофармацевтските препарати задолжително се испитуваат за присуство на бактериски ендотоксини. Тестот за бактериски ендотоксини се изведува согласно општата монографија 2.6.14 Бактериски ендотоксини. Критериумот на прифатливост е даден во индивидуалната монографија за

испитуваниот радиофармацевтик, или пак се пресметува според насоките дадени во општата монографија (Ph. Eur. 10.0, 01/2018:20614, 2020).

2.3. Валидација на постапка за чистење на опремата за производство на радиофармацевтски препарати

Валидацијата на постапката за чистење има за цел да ја потврди ефективноста на чистењето (PIC/S Guide PI 006-3, 2007, Lakshmana et al., 2014). Истата треба да биде фокусирана на деловите од опремата кои доаѓаат во директен контакт со влезните материјали/прекурзори и/или финалниот производ (Murthy et al., 2013 и WHO Technical Report Series 1025-Annex 2, 2020). Постапките за чистење кои се применуваат за производство на радиофармацевтски препарати, може да се поделат на два типа:

- чистење на модули за синтеза/апарати за делење на дози со посебен акцент на оние делови од опремата што доаѓаат во контакт со реагенси/растворувачи/прекурзори/финален производ;
- чистење на надворешни површини на опремата (на пример, надворешната површина од модулите, оловните кабинети) што не доаѓаат во директен контакт со финалниот производ (Todde et al., 2017).

• Валидација на постапката за чистење на опремата за производство која доаѓа во контакт со финалниот производ

Производството на радиофармацевтски препарати најчесто се изведува со помош на автоматизирани модули за синтеза. Модулите за синтеза може да користат касети за еднократна употреба (т.н. „касетни“ системи) или системи за повеќекратна употреба. Со „касетните“ системи, хемискиот дел, односно касетата, е за еднократна употреба, додека кај системите за повеќекратна употреба, хемискиот дел може да се користи неопределен број пати. Кај системите за повеќекратна употреба, операциите за чистење и валидацијата на чистењето се покритични, отколку при работа со касети за еднократна употреба. Валидацијата на постапката за чистење треба да се изведе пред употреба на автоматизираниот модул во рутински процес на производство, за да се докаже дека со примена на операциите за чистење ефикасно може да се отстранат сите потенцијални онечистувања, без разлика дали модулот се користи за

производство на еден, или пак, на повеќе радиофармацевтски препарати (Aerts et al., 2014).

Доколку автоматизираниот модул се користи за производство на повеќе радиофармацевтски препарати, со валидација на постапката за чистење треба да се докаже дека постапките за чистење се ефективни без оглед на редоследот по којшто се произведуваат радиофармацевтските препарати. Постапката за чистење се валидира со земање на примероци со промивање на хемискиот дел од модулот. Ваквите примероци се испитуваат со валидирани аналитички методи за одредување на резидуални растворувачи/детергенти, коишто биле користени при процесот на производство/чистење. Касетите за еднократна употреба што се користат за синтеза, не се чистат и не влегуваат во постапката за валидација на чистење. Во случај на модули со системи за повеќекратна употреба, метод од избор при валидација на чистењето, во микробиолошка смисла е тестот за билошко оптоварување (*анг. bioburden*). Валидацијата на процесот на чистење треба да вклучува најмалку три симулации на синтези на радиофармацевтик без радиоактивност, проследено со три постапки за чистење. Јонизирачкото зрачење е неповолна средина за раст на микроорганизми. Самата изведба на процесот на валидација на чистење без радиоактивност може да се смета како најлошо сценарио при изведба на валидацијата (Todde et al., 2017).

- **Валидација за постапката за чистење на надворешната површина**

Надворешните површини од модул за синтеза/апарат за делење на дози не доаѓаат во контакт со финалниот радиофармацевтик. Постапките за чистење треба да обезбедат соодветна микробиолошка чистота и се валидираат со директни методи на земање на примероци со микробиолошки контактни плочи или брисеви. Валидацијата на постапките за чистење на надворешните површини најчесто имаат за цел да покажат дека микробиолошката контаминација е во рамките на дефинираниот критериум на прифатливост, во зависност од класифицираните простории во којшто е инсталиран модулот/апаратот (Todde et al., 2017).

2.4. Асептична валидација на процесот на производство на радиофармацевтик

Процесот на производството на стерилни парентерални препарати подлежи на посебни барања за асептична работа, со цел да се минимизира ризикот од микробиолошка контаминација (PIC/S PI 007-6, 2011 и Ph. Eur. 10.0, 07/2017;50101, 2020). Асептичните постапки се валидираат со изведба на три последователни производствени серии. Целта на асептичната валидација е да се докаже дека асептичните постапки се соодветни за да се спречи микробиолошка контаминација во тек на рутинско производство на радиофармацевтик (Gillings et al., 2021). Асептичната валидација се изведува во согласност со водичите за асептична валидација (CDER, 2012 и PIC/S PI 007-6, 2011). Генерално прифатен метод за валидација на асептично работење е „Media fill“ тестот (Krämer et al., 2016 и Geersing et al., 2019).

„Media fill“ тест или „тест на симулација на процесот со хранлива подлога“ е тест во кој со течен медиум погоден за раст на микроорганизми се врши симулација на процесот на синтеза и процесот на делење на дози. Синтезата и делењето на дози со Media fill (медиум за раст на микроорганизми) треба да симулира рутински процес на синтеза и делење на дози, со ризици за контаминација (од опремата, средината, операторот) коишто можат да се случат за време на рутинско производство, при што се избира „најлошото“ сценарио во однос на ризиците.

„Bioburden“ тест или „тест за биолошко оптоварување на производ“ е тест кој се изведува на фармацевтски производи пред стерилизација, со цел да се докаже дека нивото на микроорганизми за време на процесот на производство е во дозволените гранични вредности (EudraLex Annex 1, 2022). Тестот за биолошко оптоварување симулира рутински процес на производство, без користење на финална стерилизација, со истите ризици за контаминација (од опремата, средината, операторот) што можат да се случат за време на рутинско производство.

Примероците наполнети за време на „Media fill“ и „Bioburden“ тестот се испитуваат за стерилност и концентрација на бактериски ендотоксини.

2.5. Студија на стабилност на радиофармацевтик

Стабилноста на лек е дефинирана како способност на лекот да остане во дефинираните критериуми на прифатливост за идентификација, чистота, квалитет во дефинираниот временски период. Водичите издадени од Интернационалната конференција за хармонизација (The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use - ICH) се најшироко прифатени водичи за испитување на стабилноста на лековите. Овие водичи се однесуваат на дизајнирање на студии на стабилност на нови активни супстанции и фармацевтски препарати, како и на начинот на евалуација на податоците добиени од студиите на стабилност (ICH Q1A, 2003). Кога станува збор за дизајнирање на студија на стабилност на радиофармацевтски препарати од круцијално значење е да се напомене дека водичите на ICH не можат да бидат следени во целост, од причина што постојат одредени ограничувања. Упатството Q1A(R2) од ICH не е целосно применливо за ПЕТ-радиофармацевтски препарати. Минималниот период од 12 месеци за долгорочно тестирање и 6 месеци за забрзано тестирање не може да се примени за радиофармацевтски препарати со краток период на полураспаѓање (EMA/CHMP, 2007). Фреквенцијата на тестирање за време на изведбата на студија на стабилност не може да биде применета за радиофармацевтски препарати поради краткиот период на полураспаѓање на радиоизотопот.

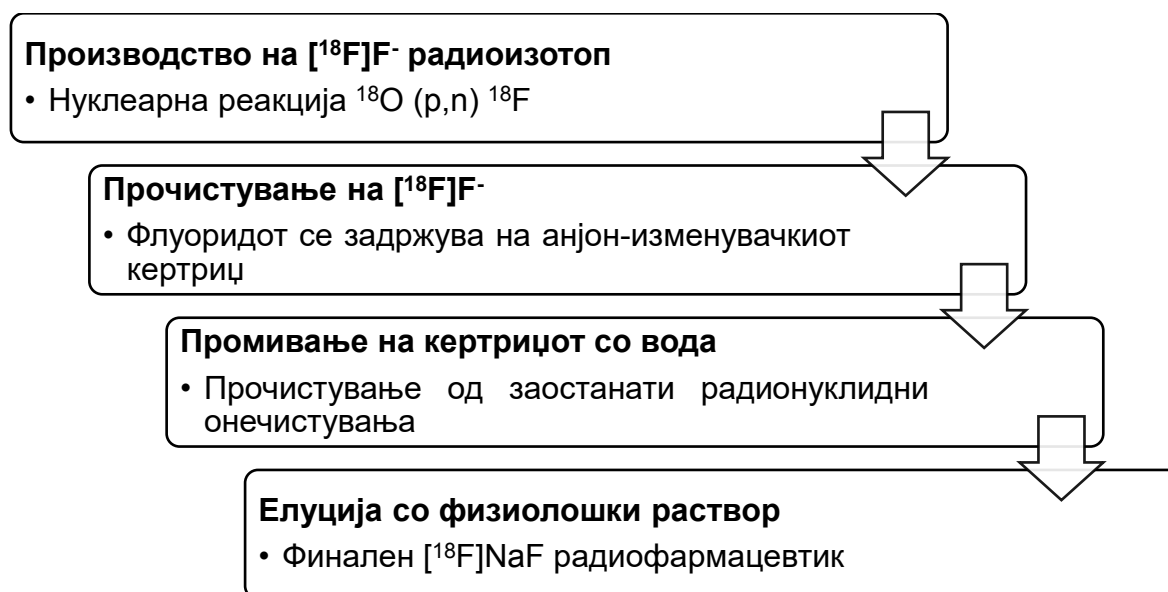
Стабилноста на финалниот производ зависи од видот на радиофармацевтикот и може да биде под влијание на различни фактори, како што се: температура на складирање, количина на радиоактивност, радиоактивна концентрација, присуството или отсуството на антиоксиданти или други стабилизирачки агенси (Molavipordanjani et al., 2018, Martins et al., 2011 и Rahmani et al., 2017). За да се дизајнира една студија на стабилност на ПЕТ-радиофармацевтик, потребно е да се дефинира временскиот интервал во кој ќе се испитува стабилноста на препаратот (Ferreira et al., 2009 и Mihon et al., 2015). Потоа се дефинираат параметрите кои ќе се испитуваат за време на студијата (физички, хемиски, биолошки и микробиолошки тестови) и фреквенцијата на нивното тестирање. При тестирање на стабилност на ПЕТ-радиофармацевтски препарати потребно е да се земат предвид минималната и максималната

концентрација на радиоактивност во времето на производството (EMA/CHMP 2007, IAEA, 2016).

Целта на изведување на студиите на стабилност е да се обезбедат информации за стабилноста на препаратот (базирано на најмалку три производствени серии), да се дефинира рокот на употреба и начинот на чување, што ќе може да се примени на сите следни серии произведени и пакувани под исти услови.

2.6. Производство на [^{18}F]NaF радиофармацевтик

[^{18}F]Натриум флуорид - [^{18}F]NaF е ПЕТ-радиофармацевтик кој се произведува во неколку чекори. Првиот чекор е синтеза на [^{18}F]F $^-$ радиоизотоп. Радиоизотопот се произведува во циклотрон со озрачување на вода збогатена со кислород 18 со забрзани протони. Произведениот радиоизотоп се испорачува до анјон-изменувачки кертриџ. Радиоизотопот во форма на флуорид [^{18}F]F $^-$ се задржува на кертриџот, додека сите катјонски и во вода растворливи онечистувања поминуваат низ кертриџот. Следниот чекор е промивање на кертриџот со вода за да се отстранат сите заостанати онечистувања. Последниот чекор е елуција на кертриџот со физиолошки раствор, при што се формулира финалниот [^{18}F]NaF радиофармацевтик.



Слика 2. Шематски приказ на производство на [^{18}F]NaF

Figure 2. Schematic representation of [^{18}F]NaF production process

$[^{18}\text{F}]\text{NaF}$, како и останатите радиофармацевтски препарати, најчесто се произведува со модули за синтеза на радиофармацевтски препарати. На пазарот се достапни повеќе модули коишто може да се користат за синтеза на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$: Modular-Lab PharmTracer (Eckert & Ziegler), Tracerlab FXFN, FASTlab Multi-Tracer-Plattform (GE) и Synthera (IBA, AllInOne (AIO) и miniAllInOne (mAIO) (Trasisis) Plug, Perform, RS, DB, (ORA Neptis®), Synthra RNplus (Synthra).

Во литературата се објавени трудови за производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ со користење на разни модули за синтеза, методи и потрошни материјали (Nandy et al., 2006, Hockley and Scott, 2010, Kao et al., 2010, Kumar et al., 2014, Collet et al., 2015 и Choi et al., 2016).

Као и соработниците (2010) ја испитале зависноста помеѓу типот на анјон-изменувачкиот кертриџ и рН-вредноста на финалниот производ. Тие во своето истражување користеле четири типа на анјон-изменувачки кертриџи: кватернерен амониум анјон-изменувачки кертриџ со јон за изменување хлорид (QMA-Cl^-), кватернерен амониум анјон-изменувачки кертриџ со јон за изменување карбонат (QMA-CO_3^{2-}), анјон-изменувачки кертриџ со кополимер од дивинилбензен и полистирен со јон за изменување хидроксид (Chromafix PS-OH) и анјон-изменувачки кертриџ со кополимер од дивинилбензен и полистирен со јон за изменување хидрогенкарбонат (PS-HCO_3^-). Пред употреба сите кертриџи биле кондиционирани. Као и соработниците подготовката на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ ја извршиле мануелно, во оловен кабинет, со стерилни потрошни материјали за еднократна употреба. Произведениот радиоизотоп го испорачале до соодветниот анјон-изменувачки кертриџ, потоа ја мереле радиоактивноста задржана на кертриџот и го промивале кертриџот со волумен од 5 mL физиолошки раствор. На шишенцето со финалниот производ ја мереле радиоактивноста и рН-вредноста. Финалниот принос коригиран за распаѓање на произведениот $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ којшто се добил со користењето на четирите различни типа на кертриџи не се разликувал. Измерената рН-вредност на финалниот производ била во рамките на критериумот на прифатливост само кога за производство бил користен кертриџот QMA-Cl^- . При производство со останатите три кертриџи се добил финален производ $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ со рН-вредност над 9,0 (Kao et al., 2010).

Choi и соработниците (2016) развиле модул специфичен за синтеза на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ и ја испитале ефикасноста на катјон-изменувачкиот кертриџ (SCX) за

задржување на катјонските радионуклидни онечистувања. Тие користеле комбинација од катјон-изменувачкиот кертриџ и анјон-изменувачки кертриџ (QMA) поставени наизменично и само анјон-изменувачки кертриџ. По завршување на процесот на производство ја мереле радиоактивноста задржана на секој кертриџ и на шишето со отпадната вода. Според нив, комбинацијата на SCX + QMA имала најголема ефикасност при задржување на радионуклидните онечистувања (Choi et al., 2016). Kumar и соработниците (2014) развиле метод за синтеза на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ со модул за Explora FDG4, произведувајќи $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ и $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ истовремено од иста серија на произведен радиоизотоп (Kumar et al., 2014). Collet и соработниците (2016) развиле метод за синтеза на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ на модулите AllInOne и miniAllInOne, користејќи касета и реагенси за еднократна употреба задоволувајќи ги барањата на добрата производна пракса. Тие за синтезата на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ користеле само анјон-изменувачки кертриџ (Collet et al., 2015). Hockley и Scott (2010) направиле мала модификација на модулот за синтеза GEMS Tracerlab FX-FN, којшто претходно бил користен за синтеза на $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$, за да го приспособат за автоматска синтеза на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$. Во синтезата користеле катјон-изменувачки кертриџ и анјон-изменувачки кертриџ редоследно поставени (Hockley and Scott, 2010).

3. ЦЕЛ НА ТРУДОТ

Целта на оваа докторска дисертација е да се развие нов и едноставен метод за полуавтоматска синтеза на радиофармацевтикот $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$, притоа користејќи го само апаратот за делење на дози, без да се користи модул за синтеза. Со вака развиениот производствен процес ќе се овозможи последователно да се изведе синтезата и делењето на дози на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$, што го прави временски пократок и економски поисплатлив процес.

За да се дефинираат најповолните услови и потрошните материјали на производствениот процес, поставени се и следниве цели:

- дефинирање на условите во производствениот процес (притисок, времетраење и начин на испорака и други варијабли);
- дефинирање на тип на анјон-изменувачки кертриџ;
- влијание на катјон-изменувачки кертриџ во комбинација со анјон-изменувачки кертриџ врз квалитетот на радиофармацевтикот;
- начин и волумен на елуција.

Дополнителна цел на оваа дисертација е утврдување на квалитетот и рокот на употреба на произведениот радиофармацевтик со ново развиениот метод, преку:

- валидација на постапката на чистење;
- асептична валидација на процесот на производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ раствор за инјектирање;
- дизајн и изведба на студија на стабилност според водичите од Интернационалната конференција за хармонизација и одредување на рокот на употреба на произведениот ПЕТ-радиофармацевтик.

4. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

4.1. Материјали

За развој на новиот метод на синтеза на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик беа користени повеќе типови материјали. Материјалите коишто беа користени се поделени на следните подгрупи:

- Материјали за синтеза на $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ радиоизотоп;
- Материјали за производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик;
- Материјали за контрола на квалитет на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик.

4.1.1. Материјали за производство на $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ радиоизотоп

Табела 1. Материјал за производство на $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ радиоизотоп

Table 1. Consumables for ^{18}F radioisotope production

Потрошен материјал	Производител
Вода збогатена со 99,8 % (H_2^{18}O)	NUKEM Isotopes, Germany

4.1.2. Материјали за производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик

Табела 2. Материјали за производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик

Table 2. Consumables for $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ production

Хемикалии и потрошен материјал	Производител
$^{18}\text{F}^-$ радиоизотоп	УИ ПЕТ
Физиолошки раствор (0,9 % NaCl)	Алкалоид АД Скопје
Вода за инјекции	Алкалоид АД Скопје
Кит за делење на дози Clio	BTC Medical Comecer, Italy
Кватернерен амониум анјон-изменувачки кертриџ (QMA)	Waters, United States
Анјон-изменувачки кертриџ со кополимер од дивинилбензен и полистирен (PS)	Macherey-Nagel, Germany
Катјон-изменувачки кертриџ - SCX	S*Pure, Singapore
Y-конектор	BB Braun, Germany
Стерилен филтер	Waters, United States
Стерилно шише	BTC Medical Comecer, Italy
Стерилен триделен шприц (10 mL)	BB Braun, Germany
Течен медиум од мешавина на пептони	BioMérieux, France
Хелиум гас / Азот гас	Messer, Macedonia

4.1.3. Материјали за контрола на квалитет на [¹⁸F]NaF радиофармацевтик

Табела 3. Хемикалии и потрошен материјал за контрола на квалитет на [¹⁸F]NaF радиофармацевтик

Table 3. Consumables for [¹⁸F]NaF quality control

Хемикалии и потрошен материјал	Производител
pH-ленти 4,5-10,0	Macherey Nagel, Germany
Натриум флуорид (референтен стандард)	Sigma Aldrich, United States
Физиолошки раствор (0,9 % NaCl)	Алкалоид АД Скопје
Вода тип 1	Direct Q3, Millipore, United States
NaOH раствор 50-52 % за јонска хроматографија	Sigma Aldrich, United States
HPLC јоно-изменувачка колона - Carborак PA10 Dionex (4 x 250 mm)	Dionex, United States
LAL кертиц	Charles River Laboratories, United States
LAL вода без пирогени	FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH – Lab Chem, Germany

4.1.4. Опрема

Табела 4. Опрема за производство и контрола на квалитет на [¹⁸F]NaF радиофармацевтик

Table 4. Production and quality control equipment for [¹⁸F]NaF radiopharmaceutical

Опрема	Производител
Циклотрон GE PETtrace 800	GE Healthcare, United States
Апарат за делење на дози Clio	Comecer, Italy
Оловен кабинет Talia	Comecer, Italy
Ламинарна комора FHR-SSC	Comecer, Italy
Dionex ICS-1600 јонски хроматограф	Dionex, United States
Endosafe PTF	Charls River, United States
Дозен калибратор ViK 202	Comecer, Italy
Дозен калибратор Atomalab 500	Biodex, United States
Гама спектрометар МКГБ-01	STC Radek, Russia

- **Опис на апаратот за делење на дози**

Clio е полуавтоматски апарат за делење на радиофармацевтски препарати (слика 3). За делење на дози апаратот користи стерилен кит за еднократна употреба и е во согласност со барањата за добра производна пракса. Дизајнот на апаратот овозможува лесна манипулација со шишенца и шприцеви и демонтирање на дневниот кит, преку употреба на клешти за далечинско управување (теле-клешти). Аеродинамичниот профил овозможува работа во услови на непрекинат ламинарен проток во оловниот кабинет, особено во областа за делење на дози.



Слика 3. Апарат за волуметриско делење на дози Clio

Figure 3. Volumetric dispenser Clio

Апаратот се управува преку софтвер (SCADA Movicon 11.4), којшто овозможува задавање на автоматски и мануелни команди. Софтверот има едноставен интерфејс, којшто е лесен за ракување и овозможува многу опции. Со помош на софтверот се креира серија за делење на дози. При креирање на серија се дефинира волумен на разредување со физиолошки раствор пред да биде испорачана радиоактивноста, целна концентрација, начин на делење на дози (шише или шприц) и финален волумен на дозите. Целната концентрација е дефинирана како радиоактивна концентрација изразена во MBq/mL или mCi/mL со која се изведува процесот на делење на дози. Во зависност од бројот на дози и времето на инјектирање, за делење на дози се користи целна концентрација во опсег од 500 до 1000 MBq/mL. Откако е испорачан радиофармацевтикот се

пресметува почетната радиоактивна концентрација, преку волуметриско земање на волумен од 1 mL на три примероци со истовремено мерење на преостанатата радиоактивност на вкупниот примерок со помош на интегриран дозен калибратор во оловниот кабинет. Софтверот на дозниот калибратор е интегриран со софтверот на апаратот за делење на дози, овозможувајќи мерење на дозите во време на инјектирање. Откако дозите се наполнети и измерени, софтверот дава опција за нивна испорака преку систем за испорака на дози. При испораката на дозите, автоматски се печати сигнатура со сите потребни податоци за поделениот радиофармацевтик. Податоците се однесуваат на име на радиофармацевтик, име и презиме на пациент/назив на доза, време на инјектирање, радиоактивност во време на инјектирање, финален волумен и рок на употреба. По завршувањето на процесот на делење на дози, апаратот овозможува тестирање на интегритетот на филтерот преку методот на детекција на меурчиња (*анг.* bubble point test - BPT), којшто е параметар за докажување на ефикасноста на филтерот за финална стерилизација (0,22 μm). Откако е изведен целиот процес серијата за делење на дози се затвора автоматски и се креира извештај од делење на дози и извештај од BPT.

Експериментите и анализите во рамки на овој труд беа спроведени во лабораториите на Универзитетски институт за позитронско-емисиона томографија користејќи ги ресурсите на институтот.

4.2. Методи

4.2.1. Методи во производство

За производство на [^{18}F]NaF радиофармацевтик беше користен апарат за делење на дози Clío. Примарно китот којшто се инсталира на апаратот е наменет за делење на дози, но со модификација, односно инсталирање на дополнителни делови на китот се овозможи истиот да се користи и за производство (синтеза) и за делење на дози. Модифицираниот кит за делење на дози се инсталира на апаратот пред секоја серија на производство.

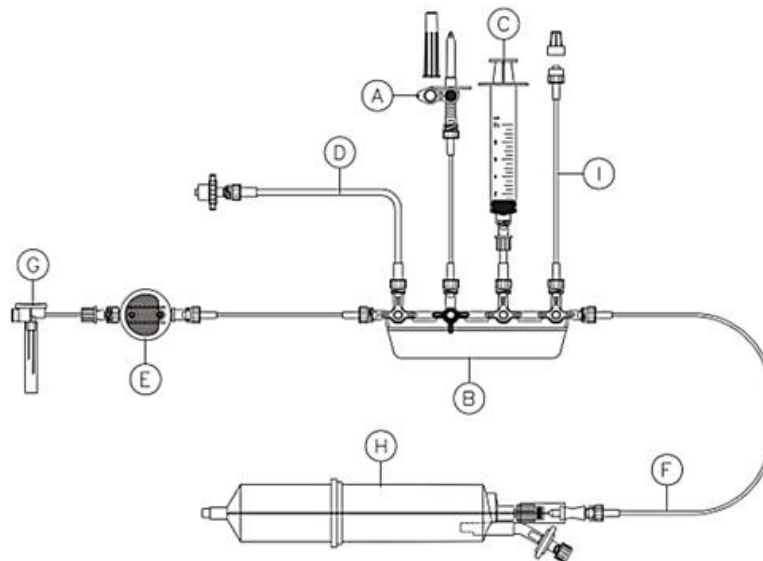
За производство на [^{18}F]NaF радиофармацевтик потребни се:

- кит за делење на дози;
- Y-конектор;
- анјон-изменувачки кертриџ;
- стерилно шише со физиолошки раствор.

- *Кит за делење на дози*

Составни делови на китот за делење на дози се (слика 4):

- A. шилест цевчест дел со вентилација за поставување на физиолошки раствор за разредување;
- B. систем за поврзување со 4 вентили и 6 влезни/излезни линии;
- C. шприц од 10 mL;
- D. продолжена линија за технички гас со филтер за воздух 0,2 μm , наменет за:
 - a. промивање на линиите со технички гас;
 - b. мешање на вкупниот раствор со создавање меури од технички гас;
 - c. изведување на тестот за интегритет на филтерот;
- E. 0,22 μm филтер за финална стерилизација;
- F. линија за поврзување на китот со шишето за радиофармацевтик;
- G. игла за делење, 21G со отвор за вентилација;
- H. цврсто шише за финалниот радиофармацевтик со капацитет од 120 mL со игла и 0,2 μm филтер за воздух;
- I. продолжена линија за испорака на радиофармацевтикот од модул за синтеза.



Слика 4. Кит за делење на дози

Figure 4. Kit for dispensing

- *Y-конектор*

Y-конекторот е стерилен конектор за еднократна употреба со два неповратни вентили што обезбедуваат неповратен проток. Конекторот има два проксимални женски „luer“ приклучоци и еден дистален машки „luer“ приклучок.

- *Анјон-изменувачки кертриџ*

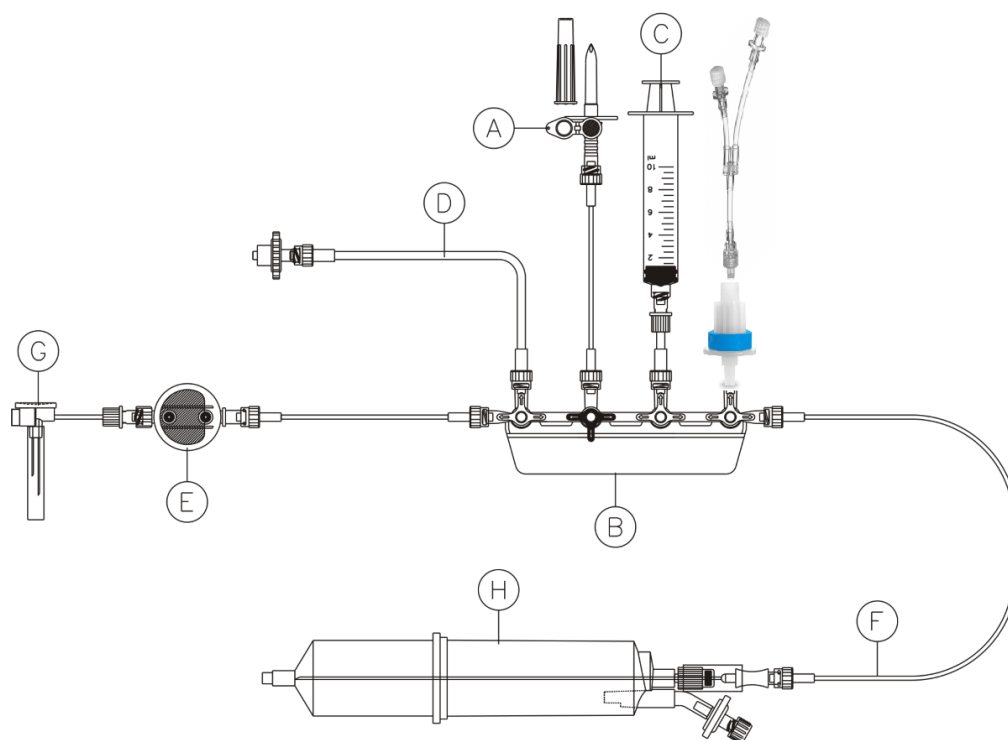
Кертриџ за цврсто-фазна екстракција (анг. Solid phase extraction cartridge – SPE cartridge) со силни анјон-изменувачки карактеристики за задржување на анјонски аналити.

- *Физиолошки раствор*

Стерилно шише со физиолошки раствор за елуција на радиоизотопот од анјон-изменувачкиот кертриџ.

Модификацијата на китот за делење на дози беше направена со отстранување на линија за пренесување на радиофармацевтик, поврзана со првиот вентил (означена со I на слика 4). Анјон-изменувачкиот кертриџ беше поврзан со дисталниот машки „luer“ приклучок од Y-конекторот. На првиот вентил беше инсталиран анјон-изменувачкиот кертриџ со Y-конекторот. Едниот проксимален женски „luer“ приклучок од Y-конекторот беше поврзан со капиларата за испорака на радиоизотопот $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$, а другиот проксимален женски „luer“ приклучок беше поврзан со шишето со физиолошки раствор. Шишето со физиолошки раствор и проксималниот приклучок беа поврзани преку линијата

која претходно беше отстранета од китот за делење на дози (слика 4). Модифицираниот кит кој беше користен за производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик е прикажан на слика 5.



Слика 5. Модифициран кит за делење на дози

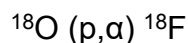
Figure 5. Modified dispensing kit

Модификацијата на китот овозможи да се развие нов метод за синтеза, користејќи го истиот кит за синтеза и делење на дози на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$, како целосен непрекинат процес во една серија. Целиот процес беше изведен во еден оловен кабинет (оловен кабинет за делење на дози - Talia). Со овој метод на производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ не се користи модул за синтеза и касета за синтеза, а со тоа се намалува финансискиот трошок потребен за производство. Радиофармацевтикот кој се произведува со овој метод одговара на барањата дадени во монографија за Натриум флуорид (^{18}F) раствор за инјектирање во Европската фармакопеја.

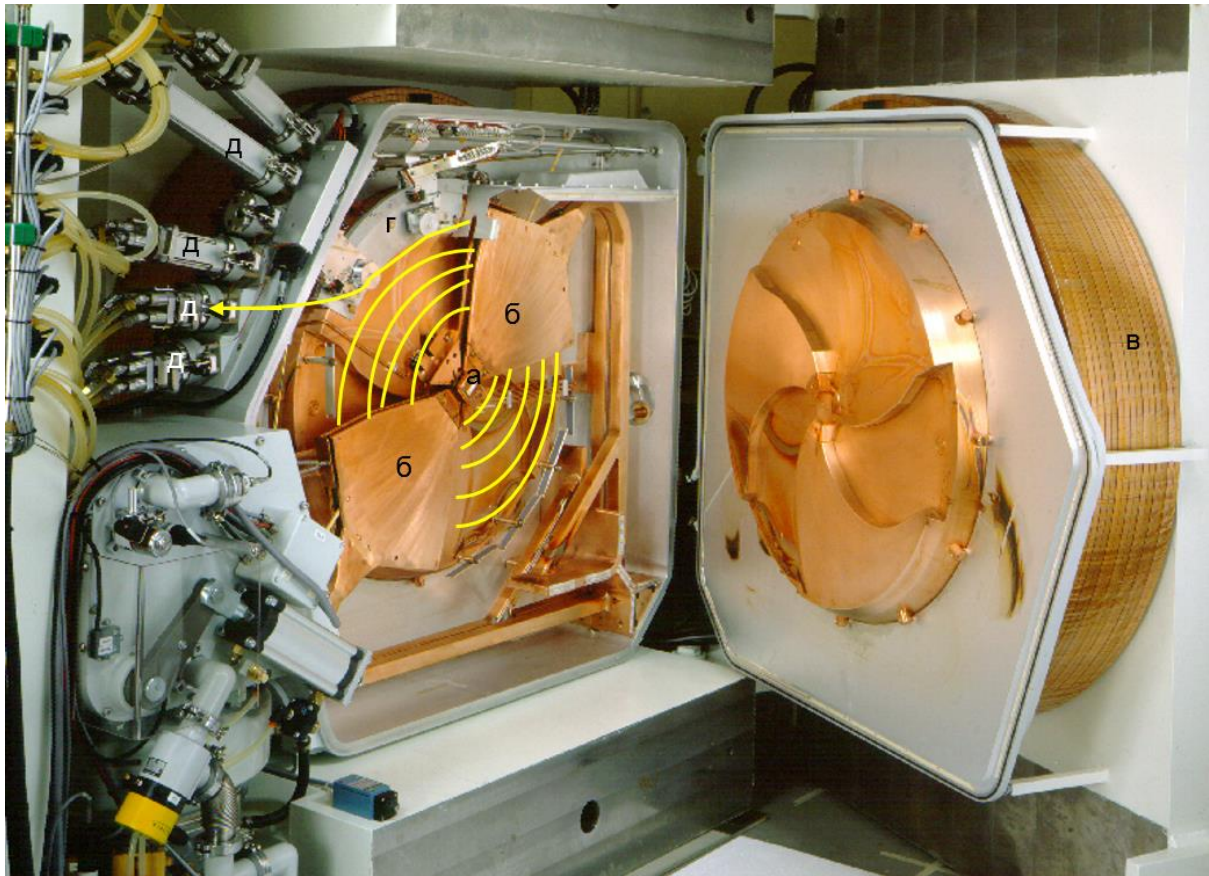
4.2.1.1. Производство на радиоизотоп [^{18}F] F^-

Радиоизотопот [^{18}F] F^- беше произведен во циклотрон, којшто е забрзувач на наелектризираните честички по кружна траекторија. Составни делови на циклотронот се: извор на јони, радиофреквентно поле, магнетно поле, систем за екстракција на јони и мета (слика 6). Наелектризираните честички се создаваат од гас водород под дејство на висок напон во изворот на јони. Негативно наелектризираните честички се извлекуваат од изворот под дејство на радиофреквентното поле, а потоа започнува нивното забрзување. Движењето на наелектризираните честички по кружна траекторија, се изведува под дејство на магнетно поле, а со помош на радиофреквентното поле се овозможува нивното забрзување. Откако честичката е забрзана со максимална енергија од 16,5 MeV, поминува низ тенка карбонска фолија (систем за екстракција) која ги задржува електроните од негативните јони. Како резултат на промена на полнежот на честичките доаѓа до промена на траекторијата на движење на снопот и негово насочување кон метата. Метата претходно се полни со вода збогатена со кислород 18, која претставува медиум за озрачување. По озрачување на збогатената вода се добива радиоизотоп [^{18}F] F^- во форма на флуорид.

Нуклеарната реакција која се случува во циклотронот е:



Максималната количина на радиоактивност на [^{18}F] F^- радиоизотоп која може да се произведе зависи од: енергијата, јачината на струјата и времето на озрачување.



Слика 6. Составни делови на циклотрон а) извор на јони б) радиофреквентно поле в) магнетно поле г) систем за екстракција на јони д) мета
 Figure 6. Cyclotron parts a) ion source b) radiofrequency field c) magnetic field d) ion extraction system d) meta

4.2.1.2. Прочистување на радиоизотопот ^{18}F - со кертриџ за цврсто фазна екстракција

- Влијанието на разни типови на анјон-изменувачки кертриџи врз приносот и квалитетот на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик

Врз основа на повеќе автори кои претходно воспоставиле метод за синтеза на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик и нивните резултати добиени со употреба на повеќе типови на анјон-изменувачки кертриџи, во нашите истражувања исто така беа користени четири типа на анјон-изменувачки кертриџи (Као et al., 2010).

- QMA-Cl⁻ - кватернерен амониум анјон-изменувачки (QMA) кертриџ со јон за изменување хлорид;

- QMA-CO₃²⁻ - кватернерен амониум анјон-изменувачки (QMA) кертриџ со јон за изменување карбонат;
- Chromafix-PS-OH⁻ - кертриџ со кополимер од дивинилбензен и полистирен (PS/DVB) со силни анјон-изменувачки карактеристики со јон за изменување хидроксид;
- Chromafix-PS-HCO₃⁻ - кертриџ со кополимер од дивинилбензен и полистирен (PS/DVB) со силни анјон-изменувачки карактеристики со јон за изменување хидрогенкарбонат.

Целта на ова испитување беше да се дефинираат кертриџите коишто би можеле да се користат за синтеза и минималниот волумен на физиолошки раствор што ќе се користи за разредување, за параметарот рН-вредност да биде во рамките на критериумот на прифатливост. За избор на соодветен анјон-изменувачки кертриџ беа изведени поединечни производства со четирите типа на анјон-изменувачки кертриџи. Пробите беа изведени во трипликати. По завршување на секое производство беше пресметан финалниот принос на [¹⁸F]NaF радиофармацевтикот. На добиените дванаесет финални производи беа испитани следните параметри од спецификацијата: рН-вредност, идентификација, хемиска, радиохемиска и радионуклидна чистота. Параметрите стерилност и бактериски ендотоксини не беа испитани, бидејќи пробите беа изведени без финална стерилизација.

Анјон-изменувачките кертриџи најпрво беа кондиционирани на следниот начин:

QMA-Cl⁻ со 5 mL стерилна вода

QMA-CO₃²⁻ со 5 mL стерилна вода

PS-OH⁻ со 5 mL стерилна вода

PS-HCO₃⁻ со 5 mL NaHCO₃ и со 5 mL стерилна вода.

Првиот чекор беше производство на радиоизотоп, произведениот радиоизотоп беше испорачан во стерилно шише во оловен контејнер. Процесите на синтеза на [¹⁸F]NaF беа изведени мануелно зад оловна заштита.

Од шишето со радиоизотоп со шприц беше земен волумен од околу 0,8 mL од радиоизотопот и беше измерен во дозен калибратор. Откако шприцот беше поврзан со соодветниот анјон-изменувачки кертриџ беше испорачан радиоизотопот низ кертриџот. Радиоизотопот [¹⁸F]F⁻ беше задржан на анјон-

изменувачкиот кертриџ, а кертриџот последователно беше промиен со волумен од 3 mL стерилна вода. Потоа беше направена елуција со волумен од 5 mL физиолошки раствор. Во шишето за финален производ претходно беше додаден волумен од 3 mL физиолошки раствор за да се симулира минималниот волумен на физиолошки раствор којшто се користи при полуавтоматско производство со апаратот за делење на дози. При полуавтоматско производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик се користи волумен од 3 mL за разредување пред да биде испорачана радиоактивноста и волумен од 5 mL физиолошки раствор со кој се врши елуција на задржаниот флуорид. Откако синтезата е завршена, се врши дополнително разредување до поставената целна концентрација.

Истата постапка беше повторена за сите типови на анијон-изменувачки кертриџи. Од секоја серија на произведениот радиоизотоп беа произведени четири серии на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ со разните типови на кертриџи коишто беа шифрирани на следниот начин:

NaFXXYYZZ*_QMA-Cl

NaFXXYYZZ*_QMA-Carb

NaFXXYYZZ*_PS-OH

NaFXXYYZZ*_PS-Carb

Каде што: XX - ден, YY - месец, ZZ - година, *- 1 прва серија во ден

Во дозен калибратор беше измерена радиоактивноста на шишето за отпадна вода на финалниот производ $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ и заостанатата радиоактивност на кертриџите за прочистување.

Волуменот на физиолошки раствор што се користи за разредување до целна концентрацијата варира од 10 до 40 mL во зависност од почетната произведена радиоактивност и приносот на финалниот радиофармацевтик. Со зголемување на почетната произведена радиоактивност и финалниот принос се зголемува волуменот на физиолошки раствор потребен за разредување. Имајќи го предвид различниот волумен на физиолошки раствор што може да се користи за разредување, pH-вредноста беше одредена пред разредување и по серија на разредувања со разни волумени на физиолошки раствор. Првото разредување беше изведено со волумен од 2 mL физиолошки раствор, а потоа три последователни разредувања со волумен од 5 mL физиолошки раствор. По секое разредување беше одредена приближната pH-вредност со pH-ленти, соодветно.

- Влијание на катјон-изменувачки кертриџ врз квалитетот на [¹⁸F]NaF радиофармацевтик

За прочистување на произведениот радиоизотоп [¹⁸F]F⁻ од радионуклидните онечистувања присутни во озрачената збогатена вода беше користен кватернерен амониум анјон-изменувачки кертриџ (Quaternary methyl ammonium cartridge - QMA) и дополнително катјон-изменувачки кертриџ (Strong cation exchange cartridge - SCX).

За избор на најсоодветна постапка за прочистување беа изведени три проби со користење на QMA и SCX кертриџите во следните комбинации:

Проба 1 - QMA + SCX

Проба 2 - SCX + QMA

Проба 3 - QMA кертриџ.

Од една серија на произведен радиоизотоп беа произведени по една серија од трите проби кои беа шифрирани на следниот начин:

NaFXXYYZZ* _ QMA + SCX

NaFXXYYZZ* _ SCX +QMA

NaFXXYYZZ* _QMA

Каде што: XX - ден, YY- месец, ZZ - година, * - 1 прва серија во ден

Опис на постапките кои беа изведени со користење на разни кертриџи за цврсто-фазна екстракција:

- *Проба 1 - прочистување со сериски поврзани анјон-изменувачки кертриџ (QMA) и катјон-изменувачки кертриџ (SCX)*

Од шишето со произведениот [¹⁸F]F⁻ радиоизотоп со шприџ беше земен волумен од околу 0,8 mL и беше измерена почетната радиоактивност. Шприџот со [¹⁸F]F⁻ радиоизотопот беше поврзан со QMA-кертриџот, којшто беше поврзан со шишето за отпадна вода. Радиоизотопот од шприџот преку QMA-кертриџот беше испорачан до шишето за отпадна вода. Следниот чекор беше промивање на кертриџот со 3 mL стерилна вода, која исто беше испорачана во шишето за отпадна вода. Потоа QMA-кертриџот беше сериски поврзан со SCX-кертриџот и шишето за финален производ. Елуцијата на радиоизотопот беше изведена со волумен од 5 mL физиолошки раствор.

- *Проба 2 - прочистување со сериски поврзани катјон-изменувачки кертриџ (SCX) и анјон-изменувачки кертриџ (QMA)*

Од шишето со произведениот [^{18}F]F⁻ радиоизотоп со шприц беше земен волумен од околу 0,8 mL и беше измерена почетната радиоактивност. Шприцот со [^{18}F]F⁻ радиоизотопот беше сервиски поврзан со SCX-кертриџот, QMA-кертриџот и шишето за отпадна вода. Радиоизотопот од шприцот, преку SCX и QMA-кертриџот, беше испорачан до шишето за отпадна вода. Следниот чекор беше промивање на кертриџот со 3 mL стерилна вода, која исто беше испорачана во шишето за отпадна вода. Потоа беше отстранет SCX-кертриџот, а QMA-кертриџот беше поврзан со шише за финален производ. Елуцијата на радиоизотопот беше изведена со волумен од 5 mL физиолошки раствор.

- *Проба 3 - прочистување само со анјон-изменувачки кертриџ (QMA)*

Беше измерена почетна радиоактивност на шприцот. Шприцот со [^{18}F]F⁻ радиоизотопот беше поврзан со QMA-кертриџот, којшто беше поврзан со шишето за отпадна вода. Радиоизотопот од шприцот преку QMA-кертриџот беше испорачан до шишето за отпадна вода. Следниот чекор беше промивање на кертриџот со 3 mL стерилна вода, која исто беше испорачана во шишето за отпадна вода. Потоа QMA-кертриџот беше поврзан со шишето за финален производ. Елуцијата на радиоизотопот беше изведена со волумен од 5 mL физиолошки раствор.

Во дозен калибратор беше измерена радиоактивноста на отпадната вода, на финалниот производ [^{18}F]NaF и заостанатата радиоактивност на кертриџите за прочистување.

На добиените примероци [^{18}F]NaF беа испитани следните параметри: pH-вредност, хемиска, радиохемиска и радионуклидна чистота. Радионуклидните онечистувања беа испитани и во отпадната вода. Пробите беа изведени без финална стерилизација, затоа параметрите стерилност и ендотоксини не беа испитани.

4.2.1.3. Прочистување на ^{18}F -од вода збогатена со ^{18}O преку анјон-изменувачки кертриџ

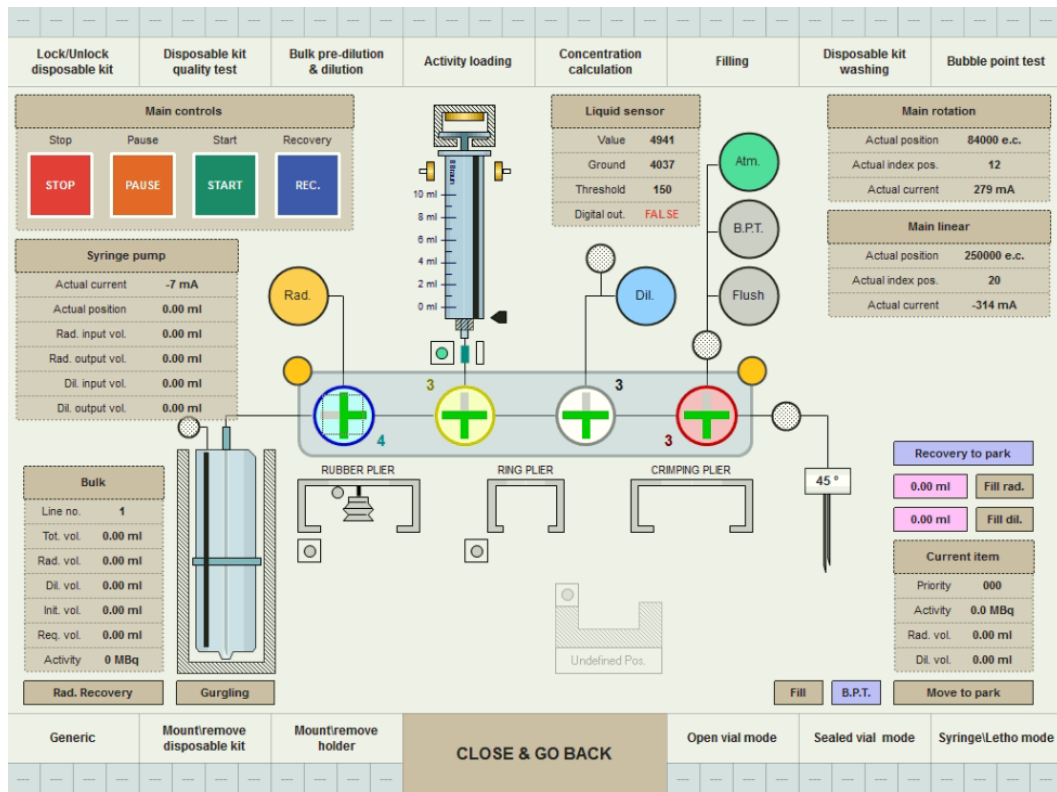
Полуавтоматското производство беше изведено само со анјон-изменувачки кертриџ со апаратот за делење на дози. Откако е дефиниран бројот на потребни дози, софтверски се креира серија за делење на дози. Следејќи ги редоследно чекорите од креираната серија, модифицираниот кит за делење на

доза (слика 5) беше инсталиран на апаратот за делење на дози. Еден од чекорите при инсталација на китот беше и поставување на држачот за шишенца и шприцеви на апаратот за делење на дози. Откако беше поставен, на држачот беше поставено шишето за отпадна вода. Следниот чекор по инсталирањето на китот беше поставување на апаратот за делење на дози во позиција на полнење на шише (слика 7). Потоа првиот вентил беше поставен во позиција четири, а вториот, третиот и четвртиот вентил во позиција три (слика 8), насочувајќи ја озрачената збогатена вода кон шишето за отпадна вода. Откако апаратот и вентилите беа поставени во соодветната позиција, испораката на радиоизотопот можеше да започне. Произведениот радиоизотоп $[^{18}\text{F}]^-$ беше испорачан преку капиларата за испорака, којашто беше претходно поврзана со едниот проксимален крај од Y-конекторот. Радиоизотопот преку Y-конекторот беше насочен кон QMA-кертриџот. $[^{18}\text{F}]^-$ беше задржан на кертриџот, додека сите останати катјонски и органски супстанции беа собрани во шишето за отпадна вода.

Filling procedure										
MAN. MODE: VIALS & SYRINGES FILLING										
---	Target rad. vol.	0.00 ml	FILL RADIOCHEM.		1st filling (dry filter)		ON	OFF		
---	Target dil. vol.	0.00 ml	FILL DILUENT		1st dilution (dil. init.)		ON	OFF		
Vial final crimping	ON	OFF	Vial locking device		LOCK	UNLOCK	Filling needle pos.		0 °	45 °
Open Vial Mode			Sealed Vial Mode			Syringe Mode				
MOVE TO FILL POS.			MOVE TO FILL POS.			MOVE TO SYRINGE FILL POS.				
TAKE RUBBER	TAKE RING	---			MOVE TO AUX. VIAL FILL POS.					
RELEASE RUBBER	RELEASE RING	---			---					
MOVE IN FILL POS.	CRIMP VIAL	---			---					
MOVE TO PARK	---	---			---					
RECOVERY TO PARK POS.			RECOVERY TO PARK POS.			RECOVERY TO PARK POS.				

Слика 7. Прозорец за поставување на апаратот во позиција за полнење на шише

Figure 7. Manual mode command for position move to aux vial fill position



Слика 8. Софтверски приказ на позицијата на вентилите на китот за делење на дози пред испорачување на радиоизотопот

Figure 8. Software illustration of position of valve before delivering the radioisotope

4.2.1.4. Промивање на кертриџот и китот со стерилна вода за инјекции

По завршување на испораката на радиоизотопот апаратот за делење дози и вентилите од китот останаа во истата позиција. Следниот чекор беше промивање на модифицираниот кит со стерилна вода, којашто исто така беше испорачана од циклотронот. Кертриџот беше промиен со волумен од 3 mL стерилна вода (волумен со кој се полни метата од циклотронот). На овој начин модифицираниот кит беше промиен од збогатената вода, којашто може да заостане во линиите по испораката на радиоизотопот. Мртвиот волумен на модифицираниот кит е 2,1 mL. Промивање со волумен од 3 mL вода и последователно сушење со инертен гас беше доволно за да се отстранат евентуалните остатоци од збогатената вода.

4.2.1.5. Елуција на [¹⁸F]F⁻ со физиолошки раствор

Откако китот беше промиен со стерилна вода и исушен со инертен гас, беа изведени редоследно чекорите кои се автоматски дефинирани при работа во серија на делење на дози, првиот вентил автоматски се поставува во позиција два (слика 9). Првиот вентил во позиција два го насочува радиоизотопот кон шишето за финален радиофармацевтик. Откако првиот вентил беше свртен во позиција два, елуцијата на флуоридот [¹⁸F]F⁻ беше изведена со волумен од 5 mL физиолошки раствор.

STOP		PAUSE		START		RECOVERY	
Reference Time	Concentration [@ Ref. Time]	Synthesis Activity [@ Ref. Time]	Remaining Activity [@ Ref. Time]	Necessary Activity [@ Ref. Time]	Total Start Vol. [Dil.+Rad.]	Current Bulk Vol. [Dil.+Rad.]	Necessary Volume [Dil.+Rad.+Kit Dead]
13/07/2020 07:10:00	0.0 MBq/ml	0.0 MBq	0.0 MBq	13280.5 MBq	0.00 ml	0.00 ml	26.56 ml
RADIOCHEMICAL LOADING							
Radiochemical lot ID	FDG1307201S	✓	Check synthesizer to be ready			DONE	
Bulk calibrator current activity	1.0 MBq	✓	Prepare Clio for loading from synthesizer			RUN	
Bulk calibrator background act.	0.0 MBq	⊙	Launch loading command on synthesizer			DONE	
			⊙	Check loading process to be ended			DONE
			⊙	Exit from loading mode			RUN
			⊙	End loading and continue			CLOSE
User	MarijaAt	1023	Mode	Automatic	Cmd.	0 0 0	Time 13:55:48 30/03/2021
BACK		WARNINGS		SYNOPTIC		HOME	

Слика 9. Софтверски приказ на чекорите и поставеност на вентилите во чекорот на елуција на радиоизотопот

Figure 9. Software illustration of position of valve before elution of the radioisotope

Шишето со волумен од 5 mL физиолошки раствор претходно беше поврзано со анјон-изменувачкиот кертриџ преку едниот проксимален женски „luer“ приклучок на Y-конекторот. Физиолошкиот раствор беше испорачан преку Y-конекторот низ кертриџот под притисок на инертен гас азот. Инертниот гас азот беше инсталиран во оловниот кабинет и преку „luer“ приклучок беше поврзан со шишето со физиолошки раствор. Инертниот гас азот беше пуштен во оловниот

кабинет само за време на елуцијата преку оловниот кабинет.

Сите автоматски синтези беа изведени со волумен од 5 mL физиолошки раствор за елуција. По завршување на синтезата беше измерена радиоактивноста заостаната на кертриџот и потоа беше направена втора мануелна елуција со дополнителни 5 mL физиолошки раствор. По втората елуција беше измерена радиоактивноста која беше задржана на кертриџот. Беше пресметан процент на задржана радиоактивност на QMA-кертриџот по елуција со волумен од 5 mL и од 10 mL физиолошки раствор.

4.2.2. Методи во контрола на квалитет

Контролата на квалитет беше изведена во согласност со претходно воспоставена спецификација на [¹⁸F]Натриум флуорид раствор за инјектирање. Параметрите во спецификацијата беа дефинирани врз основа на општата монографија за радиофармацевтски препарати (Ph.Eur. 10.0, 07/2016:0125, 2020) и монографијата на [¹⁸F]Натриум флуорид во Европска фармакопеја (Ph. Eur. 10.0, 01/2008:2100, 2020). Во табела 5 е прикажана спецификацијата на [¹⁸F]Натриум флуорид ([¹⁸F]NaF) раствор за инјектирање.

Табела 5. Спецификација на [¹⁸F]NaF раствор за инјектирање

Table 5. Specification of [¹⁸F]NaF injection

Тест	Метод	Критериум на прифатливост
ТЕСТОВИ ЗА ОДОБРУВАЊЕ НА СЕРИЈА ЗА ИНЈЕКТИРАЊЕ		
Изглед	Визуелна инспекција	Чист, безбоен раствор
Идентификација	Период на полураспаѓање	Мерење на радиоактивност 1,75-1,92 часа
	Разлика во ретенционо време	HPLC ≤ 40 секунди
pH-вредност	pH-ленти	5,5 - 8,0
Хемиска чистота: Количина на флуорид (F⁻)	HPLC	≤ 0,452 mg/mL
Радиохемиска чистота: [¹⁸F]флуорид ([¹⁸F]F⁻)	HPLC	≥ 98,5 % од вкупната радиоактивност
ТЕСТОВИ ЗА ФИНАЛНО ОДОБРУВАЊЕ НА СЕРИЈА		
Бактериски ендотоксини	Колориметриски LAL метод	< 17,5 IU/mL ¹
Стерилност	Тест за стерилност	Стерилен
Радионуклидна чистота	Гама спектрометрија	≤ 0,1 % од вкупната радиоактивност

4.2.2.1. Идентификација

- Гама-спектрометрија

Гама фотоните имаат енергија од 0,511 MeV. Во зависност од геометријата на мерењето може да се идентификува пик од 0,511 MeV или збирен пик од 1,022 MeV.

За да се одреди идентитетот на радионуклидот не е доволно само

¹ 1 IU/mL = 1 EU/mL

детекција на пик од 0,511 MeV или 1,022 MeV во гама спектарот. Бидејќи гама пиковите со енергија од 0,511 MeV и 1,022 MeV се заедничка карактеристика на позитронските емитери нема да биде идентификуван друг позитронски емитер, како што е ^{13}N (онечистување кое потекнува од ^{16}O во метата). Најдобра идентификација на радионуклидот $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ се обезбедува со комбинација од гама спектарот и определување на период на полураспаѓање.

- Период на полураспаѓање

Периодот на полураспаѓање беше испитан на примерок со три последователни мерења на радиоактивноста во тек на 30 минути во исти геометриски услови во дозен калибратор Atomlab 500. Периодот на полураспаѓање на примерокот треба да биде во опсег од 105 до 115 минути, односно 1,75 – 1,92 часови. Скратувањето на периодот на полураспаѓање може да биде резултат на присуството на ^{13}N радиоизотоп кој има период на полураспаѓање од 10 минути.

- Разлика во ретенционото време

Идентификацијата беше направена и со помош на високоперформансна течна хроматографија преку споредба на ретенционото време на главниот пик на радиохроматограмот на испитуваниот примерок и ретенционото време на главниот пик на хроматограмот на стандардниот раствор добиен со кондуктометрискиот детектор. Двата детектори се поврзани во серија. Примерокот прво поминува низ радиодетекторот, а потоа низ кондуктометрискиот детектор. Разликата во ретенционото време треба да биде помалку од 40 секунди.

4.2.2.2. *Одредување на приближна рН-вредност*

рН-вредноста треба да биде во рамките на критериумот на прифатливост од 5,5 до 8,0 рН единици. Поради дозволеният широк опсег на рН-вредност таа беше одредена со употреба на рН-ленти со опсег од 4,5 до 10,0 и резолуција од 0,5 рН-единици (приближна рН-вредност). Употребата на рН-метар не е соодветна од практични причини, бидејќи за мерење на рН-вредноста со рН-метар потребна е релативно поголема количина на радиоактивен примерок.

4.2.2.3. Хемиска и радиохемиска чистота

Хемиската и радиохемиската чистота беа испитани со метод на високоперформансна течна хроматографија.

Користен беше Dionex ICS-1600 хроматографски систем (Dionex, Thermo, USA), со изократска пумпа, кондуктометриски детектор и радиодетектор (105-S, Carol & Ramsey, USA), сериски поврзани и компјутер со инсталиран софтвер Chromeleon 6,8.

Хроматографски услови

Колона: Carborак PA10 Dionex (4 x 250 mm) со претколони CarboPac PA10 (4 x 50 mm)

Мобилна фаза: 0,1 M NaOH

Брзина на проток: 1 mL/min

Температура на колони: 33 °C

Детекција: радиодетектор и кондуктометриски детектор поврзани во серија

Волумен на инјектирање: 25 µL

Време за анализа: 15 min

Концентрација на стандардниот раствор: γ (NaF) = 1 mg/mL, γ (F) = 0,425 mg/mL.

Хемиската чистота беше испитана со споредба на површината под главниот пик на стандардниот раствор и површината под аналогниот пик на примерокот на хроматограмите добиени со кондуктометрискиот детектор. Површината под пикот (AUC) на примерокот не смее да биде поголема од површината под пикот на стандардниот раствор (најмногу 0,452 mg/mL флуорид).

Радиохемиската чистота, односно определувањето на процентот од $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ во $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ раствор за инјектирање, беше направено со анализа на радиохроматограмите на примероците од $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$. Критериум на прифатливост: најмалку 98,5 % од вкупната радиоактивност треба да потекнува од флуорид $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$.

4.2.2.4. Радионуклидна чистота

Радионуклидна чистота беше одредена со гама-спектрометрија (гама-спектрометар МКГВ-01, STC Radek, Russia). За детекција и квантификација на онечистувањата, примерокот беше испитан најмалку 72 часа по производството. Овој период е доволен за да се распадне позитронскиот емитер $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ и да се овозможи детекција на радионуклидните онечистувања. Примерокот беше поставен во комората на гама спектрометарот и беше снимен гама спектар од радионуклидните онечистувања. Софтверот ги препознава и прикажува сите пикови од детектирани радионуклиди. Според енергијата на детектираниот пик и врз основа на постоечката база на податоци се идентификуваат присутните радионуклиди. Покрај идентификација на присутните радионуклиди беше извршена и квантификација на идентификуваните пикови. Критериум на прифатливост: најмалку 99,9 % од гама зрачењето треба да потекнува од финалниот примерок на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$, односно радионуклидните онечистувања треба да бидат помалку од 0,1 % (10^{-1} %) од вкупната радиоактивност во референтно време.

4.2.2.5. Одредување на бактериски ендотоксини

Тестот за одредување на бактериски ендотоксини беше изведен со користење на апарат Endosafe PTS со колориметриски метод. Определувањето на ендотоксини се базира на употреба на амебоцитен лизат од потковичест рак (*Limulus amoebocyte lysate* - LAL). Принципот на одредување на концентрацијата на бактериски ендотоксини е со хромоген кинетички метод, којшто го мери интензитетот на создадената боја што е пропорционален со концентрацијата на ендотоксини во испитуваниот примерок. Endosafe PTS систем претставува спектрофотометар со грејач, термостат, пумпа и вграден софтвер за анализа на податоците. Секоја касета содржи точно одредена количина на сертифициран LAL реагенс, хромоген супстрат и стандардна концентрација на ендотоксини во контролните места (бунарчиња) за примерокот. Критериум на прифатливост: помалку од 175 IU/mL, максимално дозволен волумен е 10 mL тогаш дозволената концентрација ќе биде < 17,5 IU /mL (Ph.Eur. 10.0, 01/2018:20614, 2020).

4.2.2.6. *Тестирање на стерилност*

Примероците за стерилност беа доставени до надворешна сертифицирана лабораторија (ЈЗУ Институт за јавно здравје на РС Македонија-Оддел за микробиологија) по целосно распаѓање на радиоактивноста. Стерилноста беше испитана според фармакопејската метода Ph.Eur 2.6.1 (Ph. Eur. 10.0, 04/2011:20601, 2020). Тестот за стерилност вклучуваше инкубација на примерок во два различни медиуми за раст: соја дигестивен медиум соодветен за раст на фунги и аеробни бактерии и течен тиогликолатен медиум соодветен за раст на анаеробни бактерии. Медиумите беа инкубирани 14 дена. Критериум на прифатливост: испитуваниот примерок да биде стерилен.

4.2.3. Метод за изведба на валидација на постапката на чистење на опремата за производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$

Валидација на постапката за чистење на опремата беше изведена трипати со земање на примероци по три чистења. Валидацијата на чистењето на опремата за производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ беше спроведена на капиларата за испорака од циклотронот до апаратот за делење на дози Clío и на апарат за делење на дози Clío.

За производството на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ беше користена следната опрема: циклотрон (мета на циклотрон), капилара за испорака на $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ радиоизотоп од циклотронот до апаратот за делење на дози Clío, оловен кабинет за делење на дози (Talía) со преткомора класа-B и комора класа-A, апарат за делење на дози (Clío).

Во текот на производството, радиоизотопот $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ доаѓаше во контакт со: метата на циклотронот и капиларата за испорака на $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ радиоизотоп од циклотронот до апаратот за делење на дози.

Во текот на производството радиофармацевтикот $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ доаѓаше во контакт со: Y-конекторот, QMA-кертриџот и китот за делење на дози.

Y-конекторот, QMA-кертриџот и китот за делење на дози се наменети за еднократна употреба. Од оваа причина не се чистат и не беа предмет на оваа валидација. Чистењето и валидацијата беа извршени само на капиларата за испорака на ^{18}F -радиоизотоп од циклотрон до апарат за делење на дози и на надворешната површина на апаратот за делење на дози.

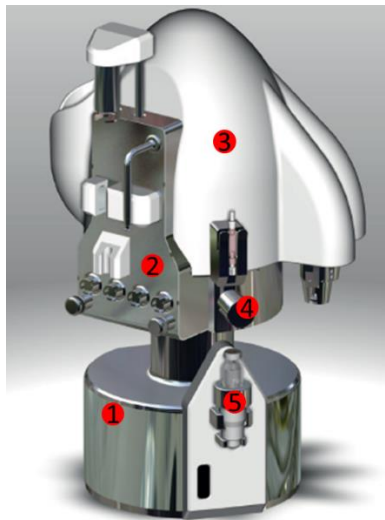
- *Валидација на постапка на чистење на капиларата за испорака на радиоизотоп од циклотронот до апаратот за делење на дози Clío*

Капиларата за испорака на радиоизотоп ^{18}F се користи само за испорака на озрачена збогатена вода со радиоизотоп ^{18}F . Чистењето на капиларата со средства за дезинфекција не е дозволено поради ризикот од контаминација на метата во циклотронот. Чистењето на капиларата се изведува само со сушење на капиларата со инертен гас хелиум. Примероците за валидацијата на постапката за чистење на капиларата за испорака беа земени со промивање и беше испитана само микробиолошката чистота.

Во оловниот кабинет за делење на дози беше поставено стерилно шише кое беше поврзано со капиларата за испорака на радиоизотопот. На шишето беше поставена и игла за вентилација со 0,22 μm филтер. Откако шишето и капиларата за испорака беа поврзани беше испорачана збогатената вода од циклотронот. Во шишенцето дополнително беше внесен воздух преку стерилен филтер за да се обезбеди раст на аеробните бактерии. Шишето беше доставено до лабораторијата за контрола на квалитет, каде што беше земен примерок за испитување на бактериски ендотоксини (LAL-тест). Потоа шишето беше доставено до надворешната лабораторија, каде што беше испитано биолошко оптоварување на примерокот. Најлошото сценарио беше изведено на тој начин што беше испорачана нерадиоактивна збогатена вода, два дена по озрачување и сушење на капиларата. Шишето беше оставено да отстои 24 часа, а потоа беше анализирано за биолошко оптоварување.

- *Валидација на постапка на чистење на апарат за делење на дози*

Апаратот за делење на дози се чисти на дневна основа со средство за дезинфекција. Еднаш неделно се изведува генерално чистење со користење на детергент и средство за дезинфекција. Откако апаратот за делење на дози Clio беше исчистен, беа земени брисови од надворешната површина на апаратот. Брисовите беа земени со затворен плексиглас. Позициите од каде што беа земени брисовите се прикажани на слика 10.



Слика 10. Позиции за земање на брис од апарат за делење на дози Clio

Figure 10. Swabs position for dispensing unit Clio

Најлошо сценарио: брисевите беа земени еден ден по чистење на апаратот за делење на дози, пред да биде изведено генералното чистење на апаратот.

Добиените резултати од примероците тестирани во тек на валидацијата на чистење мора да бидат во следните критериуми на прифатливост:

- Брис-контактна површина: класа А нема раст (EudraLex Annex 1, 2022);
- бактериски ендотоксини: помалку од 17,5 IU/mL (Ph.Eur. 10.0, 01/2018:20614, 2020);
- биолошко оптоварување: помалку од 10 CFU/100 mL (EMA/CHMP, 2019).

4.2.4. Метод за изведба на асептична валидација на процесот на производство на [¹⁸F]NaF

Асептичната валидација беше изведена со симулација на процесот на производство (синтеза и делење на дози) со Bioburden-тест и Media fill-тест. Валидацијата на асептичниот процес на производство на [¹⁸F]NaF раствор за инјектирање опфаќаше испорака на збогатена вода (H₂¹⁸O) од циклотрон, синтеза и делење на дози со апаратот за делење на дози (Clio).

Серискиот број на сериите за асептична валидација беа формирани на следниот начин:

AVNaFXXYYZZ* _ BB

AVNaFXXYYZZ* _ MF

Каде што: XX - ден, YY - месец, ZZ - година, *- 1 прва серија во ден, BB - bioburden, MF - mediafill-тест.

За примероците за биолошко оптоварување шифрата останува иста како и на серијата, само што последователно се додава редниот број на примерокот (пр. AVNaFXXYYZZ*-BB1, AVNaFXXYYZZ*-BB2 итн.), а за примерокот за ендотоксини наместо кратенката BB се пишува EN.

За примероците за Media fill шифрата останува иста како и на серијата, само последователно се додава редниот број на примерокот (пр. AVNaFXXYYZZ*-MF1, AVNaFXXYYZZ*-MF2 итн.), а за примерокот за ендотоксини наместо кратенката BB се пишува EN.

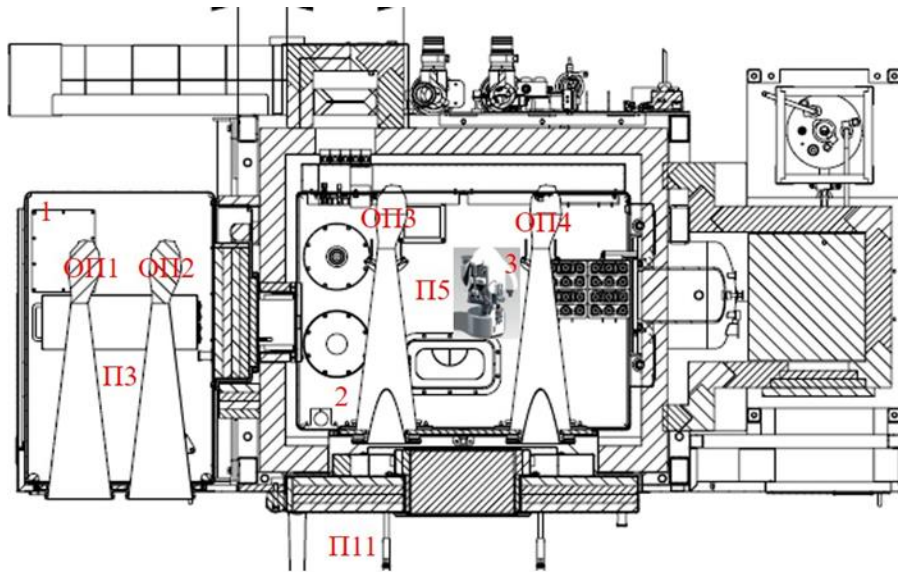
Тестот за биолошко оптоварување беше изведен во трипликат. Филтерот за стерилизација како составен дел од модифицираниот кит беше отстранет, а потоа китот беше инсталиран на апаратот за делење на дози. Збогатената вода од циклотронот преку капиларата за испорака беше испорачана низ Y-конекторот и QMA-кертриџот до шишето за отпадна вода. беше симулиран целосен процес на делење на дози со физиолошки раствор и беа наполнети 11 дози. Првата доза беше примерок за контрола на квалитет и беше наполнет волумен од 1 mL во стерилно шише. На овој примерок беше испитана концентрацијата на бактериски ендотоксини (LAL-тест). Останатите 10 дози беа наполнети во шприцеви со максимален волумен од 10 mL и беа тестирани на стерилност.

Medila Fill-тестот беше изведен трипати со симулација на процесот на синтеза и делење на дози со подлога која поддржува раст на микроорганизми. Наместо физиолошки раствор за елуција на кертриџот и разредување на финалниот $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик беше користена подлогата која поддржува раст на микроорганизми - Media fill. Исто како и кај тестот за биолошко оптоварување беа наполнети 11 дози.

Како соодветен медиум за изведба на Media fill-тестот беше избран течен медиум од мешавина на пептони (*анг.* Tryptase Soy Broth (TSB-ST)). Течниот медиум од мешавина на пептони кој беше наменет за валидација на асептичниот процес, најпрво беше испитан дали поддржува раст на микроорганизми со изведба на тест за промоција на раст (*анг.* Growth promotion test - GPT) (Ph. Eur. 10.0, 04/2011:20601, 2020).

Најлошото сценарио за време на изведбата на асептичната валидација беше отворена на вратата помеѓу преткомора (класа-B) и комора (класа-A) за време на целиот процес на делење на дози и во текот на делењето на дози беше внесен дополнителен шприц за делење на дози преку преткомората.

За време на изведбата на асептичната валидација беше спроведен микробиолошки мониторинг. Беа поставени три таложни плочи: во преткомора на Talia (П3), комора на Talia (П5) и на под во лабораторијата (П11), а на крај на подготовката, пред да се започне со производство беа земени отпечатоци од прсти од преткомората и комората (ОП1-отпечаток од прсти, лева рака преткомора, ОП2-отпечаток од прсти, десна рака преткомора, ОП3-отпечаток од прсти, лева рака комора, ОП4-отпечаток од прсти, десна рака комора) (слика 11). За време на изведбата на асептичната валидација исто така беше спроведен и физички мониторинг, броење на честички со калибриран бројач на честички, како задолжителен параметар при полнење на дози во класа-A (PIC/S Guide PE 009-16; Annex 1, 2022).



Слика 11. Локациски план за микробиолошки мониторинг во оловен кабинет Talia: 1 - преткомора (класа-В), 2 - комора (класа-А), 3 - Clio. ОП1 - отпечаток од прсти лева рака преткомора, ОП2 - отпечаток од прсти десна рака преткомора, ОП3 - отпечаток од прсти лева рака комора, ОП4 - отпечаток од прсти десна рака комора, П3 - таложна плоча во преткомора, П5 - таложна плоча во комора, П11 - таложна плоча пред Talia на под помеѓу преткомора и комора

Figure 11. Locations determined for microbiological controls in hot cell Talia: 1 - Prechamber (class B), 2 - Chamber (class A), 3 - Clio dispensing module. ОП1 - fingerprint left-hand prechamber, ОП2 - fingerprint right-hand prechamber, ОП3 - fingerprint left-hand chamber, ОП4 fingerprint right-hand chamber, П3 - settle plate in the prechamber, П5 - settle plate in the chamber, П11 - settle plate in the laboratory between prechamber and chamber

Добиените резултати од асептичната валидација на процесот на производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ раствор за инјектирање, мора да бидат во долунаведените критериуми на прифатливост:

- тест за поддржување на раст на микроорганизми: да има видлив раст на микроорганизми (Ph. Eur. 10.0, 04/2011:20601, 2020);
- биолошко оптоварување: помалку од 10 CFU/100 mL (EMA/CHMP, 2019);
- бактериски ендотоксини: помалку од 17,5 IU/mL (Ph.Eur. 10.0, 01/2018:20614, 2020);
- стерилност – нема раст на микроорганизми (стерилен), (Ph. Eur. 10.0, 04/2011:20601, 2020).

4.2.5. Метод на изведување на студија на стабилност

Студијата на стабилност на [^{18}F]NaF раствор за инјектирање беше изведена на три производствени серии со радиоактивна концентрација од 1000 MBq/mL како максимална концентрација на радиоактивност на крај од синтеза (end of synthesis - EOS), следејќи ги препораките од водичите издадени од Европската агенција за лекови (European Medicines Agency – EMA, 2008). Трите серии на [^{18}F]NaF раствор за инјектирање беа произведени со рутински процес на производство. Во текот на целиот процес на синтеза и делење на дози во трите серии беше спроведен физички мониторинг. Во трите тестирани серии примероците беа наполнети во стерилни стаклени шишенца изработени од боросиликатно стакло - тип еден, со гумен затворац и алуминиумско капаче со централен отвор. Наполнетите примероци беа испорачани од оловниот кабинет преку систем за испорака на дози во оловен контејнер за шишенца. При дизајнот на студијата на стабилност, како единствен фактор од надворешната средина што можеше да се смета како променлив беше температурата. Влажноста не беше земена предвид, бидејќи примероците беа наполнети во затворени шишенца и таа немаше влијание врз стабилноста на крајниот производ. Исто така, светлината беше исклучена како фактор што влијае на стабилноста поради тоа што радиофармацевтикот [^{18}F]NaF се чува во оловен контејнер заштитен од светлина. Како репрезентативни примероци беа земени два примерока со волумени од 1 mL за контрола на квалитет. Двата примерока беа чувани во оловен контејнер за шишенце на контролирана температура од 18 - 24 °C. Фреквенцијата на тестирање треба да биде доволна за да се утврди профилот на стабилност на радиофармацевтикот и беше дефинирана на секои два часа во рок од десет часа. Тестовите кои беа дефинирани во спецификација за [^{18}F]Натриум флуорид раствор за инјектирање беа спроведени во шест точки: крај на синтеза (EOS), вториот, четвртиот, шестиот, осмиот и десеттиот час. Сите тестови дефинирани во спецификацијата (идентификација, pH-вредност, хемиска и радиохемиска чистота, бактериски ендотоксини, стерилност и радионуклидна чистота) беа изведени во првата и последната дефинирана точка од студијата за стабилност, односно, EOS (0 часа) и десеттиот час. Во останатите точки беа испитани само pH-вредноста, хемиската и радиохемиската чистота. Радионуклидната чистота како еден од тестовите за финално

одобрување на серијата беше испитана по 72 часа од производството. Стерилноста како тест за финално одобрување на серијата беше испитана по распаѓање на радиоактивноста, во надворешна лабораторија, на по еден примерок од секоја серија.

5. РЕЗУЛТАТИ

[¹⁸F]Натриум флуорид е ПЕТ-радиофармацевтик кој наоѓа широка клиничка примена за визуализација на скелетниот систем. Освен во онкологијата, [¹⁸F]NaF раствор за инјекции наоѓа примена и за визуализација на микрокалцификати во кардиоваскуларниот систем. Поради големата клиничка значајност на овој радиофармацевтик развиени се повеќе методи на синтеза со користење на разни модели на модули за синтеза.

Во оваа докторска дисертација беше анализирано влијанието на разни параметри и користени материјали врз финалниот принос и квалитетот на произведениот радиофармацевтик. Беа извршени мануелни и полуавтоматски синтеси за да се дефинираат најповолните параметри за процесот на производство. На произведениот радиофармацевтик му беше анализиран квалитетот. Потоа беше изведена валидација на постапката на чистење на опремата која се користи за производство на [¹⁸F]NaF и откако беше докажана ефикасноста на чистењето, беше изведена асептична валидација на процесот на производство. По дефинирање на параметрите во производствениот процес, процесот беше валидиран и беше изведена студија на стабилност за да се одреди рокот на употреба и квалитетот на радиофармацевтикот [¹⁸F]NaF во предложениот рок на употреба.

5.1. Производство на радиоизотоп [¹⁸F]F⁻

Радиоизотопот [¹⁸F]F⁻ е позитронски емитер кој се произведува во циклотрон на начин опишан во метод 4.2.1.1. Производство на радиоизотоп [¹⁸F]F⁻. За изведба на сите потребни анализи беа произведени 15 серии на радиоизотоп, со користење на струја со различна јачина и време на озрачување во зависност од потребната количина на радиоактивност на [¹⁸F]F⁻. Во табела 6 се прикажани произведените серии, количината на радиоактивност на [¹⁸F]F⁻ радиоизотоп, користената струја и времетраењето на озрачување.

Табела 6. Серије на $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ радиоизотопTable 6. $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ production batches

Серија на радиоизотоп / Radioisotope batch	Серија на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}/ [^{18}\text{F}]\text{NaF}$ batch	A (mCi)	Струја/ Current (μA)	Време/ Time (min:s)
20200821+_000648	NaF2008201	63	40	01:06
20200928+_000665	NaF2809201	1145	39	23:29
20210712+_000823	NaF1207211	303	40	05:52
20210715+_000827	NaF1507211	308	35	06:50
20210922+_000862	NaF2209211_QMA + SCX	1288	25	46:14
	NaF2209211_SCX + QMA			
	NaF2209211			
20210927+_000866	NaF2709211	326	47	05:20
20210928+_000867	NaF2809211_QMA + SCX	337	48	05:26
	NaF2809211_SCX + QMA			
	NaF2809211_QMA			
20210929+_000869	NaF2909211	334	46	05:33
20211004+_000872	NaF0410211	426	40	08:17
20211006+_000874	NaF0610211_QMA + SCX	364	46	06:00
	NaF0610211_SCX + QMA			
	NaF0610211_QMA			
20211011+_000879	NaF1110211_QMA + SCX	323	37	06:47
	NaF1110211_SCX + QMA			
	NaF1110211_QMA			
20211012+_000880	NaF1210211	455	35	10:00
20220121+_000938	NaF2101221_QMA_CI	398	40	07:37
	NaF2101221_QMA_Carb			
	NaF2101221_PS_OH			
	NaF2101221_PS_Carb			
20220216+_000953	NaF1602221_QMA_CI	321	40	06:20
	NaF1602221_QMA_Carb			
	NaF1602221_PS_OH			
	NaF1602221_PS_Carb			
20220217+_000955	NaF1702221_QMA_CI	327	40	06:31
	NaF1702221_QMA_Carb			
	NaF1702221_PS_OH			
	NaF1702221_PS_Carb			

5.2. Влијанието на разни типови на анјон-изменувачки кертриџи врз приносот и квалитетот на [¹⁸F]NaF радиофармацевтик

За да се дефинира најповолен тип на анјон-изменувачки кертриџ за производство на [¹⁸F]NaF радиофармацевтик беа користени четири типа на кертриџи. Како критериум за избор на најповолен анјон-изменувачки кертриџ беа анализирани параметрите дефинирани во спецификацијата во делот Тестови за одобрување на серија за инјектирање, со посебен осврт на приближната pH-вредност на финалните примероци и на финалниот принос.

- **Принос на финалниот производ [¹⁸F]NaF и процент на задржана радиоактивност**

Во табела 7 е прикажан приносот на произведените примероци на [¹⁸F]NaF и процентот на задржана радиоактивност на користениот кертриџ, како и во шишето за отпадна вода.

Табела 7. Задржана радиоактивност и принос со користење на разни анјон-изменувачки кертриџи за прочистување

Table 7. Retained radioactivity and yield using different anion-exchange cartridges

Серија Batch	Задржана радиоактивност/ Retained radioactivity (%)		Принос/ Yield (%)	
	Кертриџ/ Cartridge	Отпадна вода Recovery water	d.c.	n.d.c.
NaF2101221_QMA_CI	4,423	4,117	85,99	83,84
NaF2101221_QMA_Carb	2,064	0,094	88,19	85,99
NaF2101221_PS_OH	1,065	5,759	77,40	75,94
NaF2101221_PS_Carb	1,534	6,684	75,72	74,30
NaF1602221_QMA_CI	0,220	3,770	85,28	82,62
NaF1602221_QMA_Carb	0,153	0,027	87,25	85,07
NaF1602221_PS_OH	0,101	4,176	82,51	80,45
NaF1602221_PS_Carb	1,603	4,800	81,91	79,86
NaF1702221_QMA_CI	0,105	0,558	87,56	83,77
NaF1702221_QMA_Carb	0,180	0,026	89,41	85,00
NaF1702221_PS_OH	3,214	4,096	79,40	76,44
NaF1702221_PS_Carb	4,820	7,933	77,90	75,00

- **Приближна рН-вредност на испитаните серии**

За да се процени влијанието на типот на кертриџот и јонот за изменување врз параметарот рН-вредност беа изведени серија на разредувања и приближната рН-вредност беше мерена со рН-ленти по секое разредување. Во табела 8 се прикажани измерените приближни рН-вредности.

Табела 8. Приближна рН-вредност на [¹⁸F]NaF примероци

Table 8. Approximate pH value of [¹⁸F]NaF samples

Серија/ Batch	Приближна рН-вредност/ Approximate pH-value				
	Вкупен волумен на финален примерок/ Total volume of final sample				
	8 mL	10 mL	15 mL	20 mL	25 mL
NaF2101221_QMA_CI	6,5 – 7,0	6,5 – 7,0	/	/	/
NaF2101221_QMA_Carb	7,5 - 8,0	7,5 - 8,0	7,0 - 7,5	6,5 - 7,0	/
NaF2101221_PS_OH	7,5 – 8,0	7,0 – 7,5	7,0 – 7,5	6,5 – 7,0	6,5 – 7,0
NaF2101221_PS_Carb	8,5 – 9,0	8,0- 8,5	7,5- 8,0	7,5 – 8,0	7,5 – 8,0
NaF1602222_QMA_CI	6,5 – 7,0	6,5 – 7,0	/	/	/
NaF1602221_QMA_Carb	8,0 - 8,5	7,5 - 8,0	7,0 - 7,5	7,0 - 7,5	/
NaF1602221_PS_OH	8,0 - 8,5	7,5 - 8,0	7,5 - 8,0	7,0 - 7,5	7,0
NaF1602221_PS_Carb	8,5 – 9,0	8,5 – 9,0	8,5	8,0- 8,5	8,0- 8,5
NaF1702221_QMA_CI	6,5 – 7,0	6,5 – 7,0	/	/	/
NaF1702221_QMA_Carb	8,0 - 8,5	8,0 - 8,5	7,5 - 8,0	7,0 - 7,5	7,0 - 7,5
NaF1702221_PS_OH	8,0 - 8,5	7,5 - 8,0	7,5 - 8,0	7,0 - 7,5	7,0 - 7,5
NaF1702221_PS_Carb	8,5 – 9,0	8,5 – 9,0	8,0 - 8,5	8,0 - 8,5	8,0 - 8,5

- **Идентификација**

Идентификацијата на радиоизотопот беше изведена со два теста: одредување на период на полураспаѓање и со испитување на хроматограмите добиени од испитување на радиохемијска чистота, со споредба на ретенционите времиња на стандардот и примерокот.

- **Период на полураспаѓање**

Периодот на полураспаѓање на радиоизотопот [¹⁸F]F⁻ е 1,83 h (109,8 min). Добиените резултати прикажани во табела 9 го потврдија идентитетот на произведениот радиоизотоп.

Табела 9. Идентификација - период на полураспаѓање на [¹⁸F]F⁻ радиоизотоп

Table 9. Identification - half-life of [¹⁸F]F⁻ radioisotope

Серија Batch	Период на полураспаѓање / Half-life determination (h)
NaF2101221_QMA_CI	1,81
NaF2101221_QMA_Carb	1,84
NaF2101221_PS_OH	1,82
NaF2101221_PS_Carb	1,84
NaF1602221_QMA_CI	1,80
NaF1602221_QMA_Carb	1,83
NaF1602221_PS_OH	1,82
NaF1602221_PS_Carb	1,82
NaF1702221_QMA_CI	1,84
NaF1702221_QMA_Carb	1,87
NaF1702221_PS_OH	1,85
NaF1702221_PS_Carb	1,83

○ *Разлика во ретенционо време*

Разликата во ретенционото време (Rt) помеѓу пикот од стандардот (St) и примерокот (A), добиени од хроматограмите (слика 15, 16 и 17), се прикажани во табела 10.

Табела 10. Идентификација - разлика во ретенционо време на [¹⁸F]NaF

Table 10. Identification - difference in retention time of [¹⁸F]NaF

Серија / Batch	Rt St (min)	Rt A (min)	Разлика Rt / Rt difference (s)
NaF2101221_QMA_CI	6,5	6,04	27,6
NaF2101221_QMA_Carb	6,5	5,987	30,78
NaF2101221_PS_OH	6,5	5,96	32,4
NaF2101221_PS_Carb	6,5	6,08	25,2
NaF1602221_QMA_CI	6,407	5,96	26,82
NaF1602221_QMA_Carb	6,407	5,88	31,8
NaF1602221_PS_OH	6,407	6,037	22,2
NaF1602221_PS_Carb	6,407	5,96	26,82
NaF1702221_QMA_CI	6,38	5,94	26,4
NaF1702221_QMA_Carb	6,38	5,84	32,04
NaF1702221_PS_OH	6,38	6,01	22,02
NaF1702221_PS_Carb	6,38	5,91	28,02

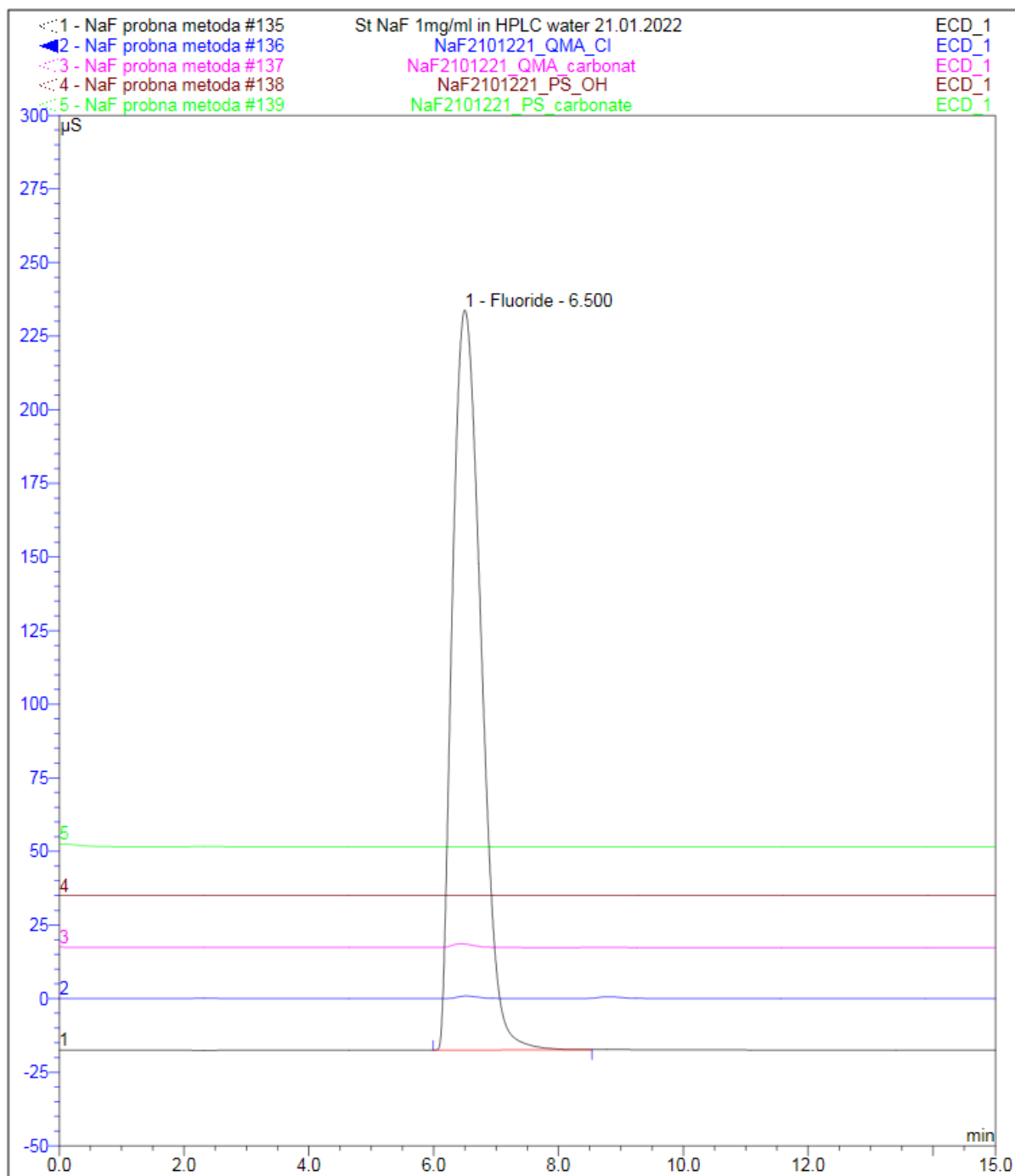
- **Хемиска чистота**

Хемиската чистота беше определена со метод на високоперформансна течна хроматографија (Метод 4.2.2.3.). При анализа на хроматограмите прикажани на сликите 12, 13 и 14 може да се заклучи дека не е детектирана количина на нерадиоактивен флуорид како хемиско онечистување во финалните производи од [¹⁸F]NaF. Концентрацијата на флуорид (F⁻) изразена во mg/mL е прикажана во табела 11.

Табела 11. Хемиска чистота на [¹⁸F]NaF примероци

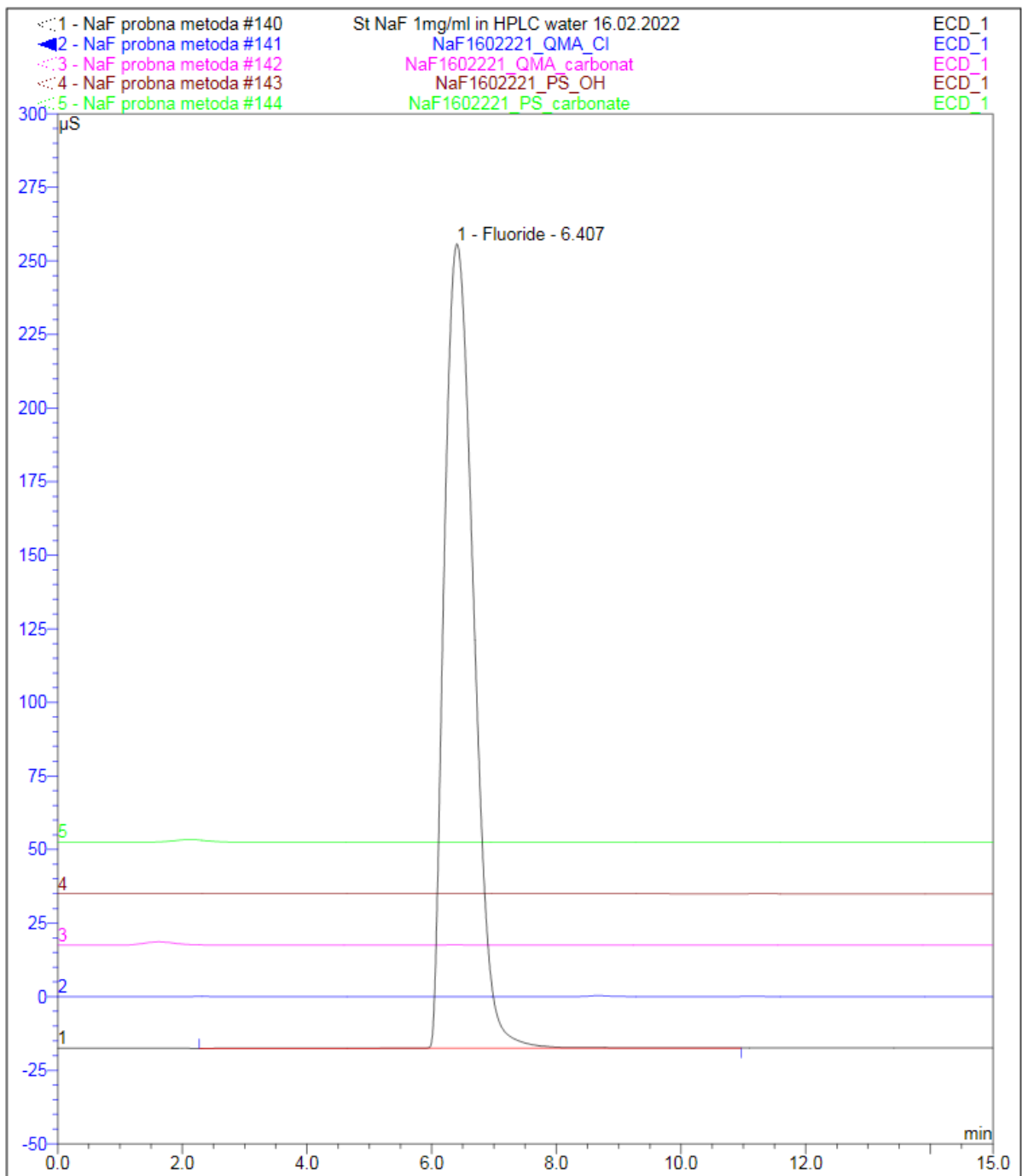
Table 11. Chemical purity of [¹⁸F]NaF samples

Серија / Batch	AUC St (μS*min)	AUC A (μS*min)	F⁻ (mg/mL)
NaF2101221_QMA_CI	133,774	0	0
NaF2101221_QMA_Carb	133,774	0	0
NaF2101221_PS_OH	133,774	0	0
NaF2101221_PS_Carb	133,774	0	0
NaF1602221_QMA_CI	148,937	0	0
NaF1602221_QMA_Carb	148,937	0	0
NaF1602221_PS_OH	148,937	0	0
NaF1602221_PS_Carb	148,937	0	0
NaF1702221_QMA_CI	147,796	0	0
NaF1702221_QMA_Carb	147,796	0	0
NaF1702221_PS_OH	147,796	0	0
NaF1702221_PS_Carb	147,796	0	0



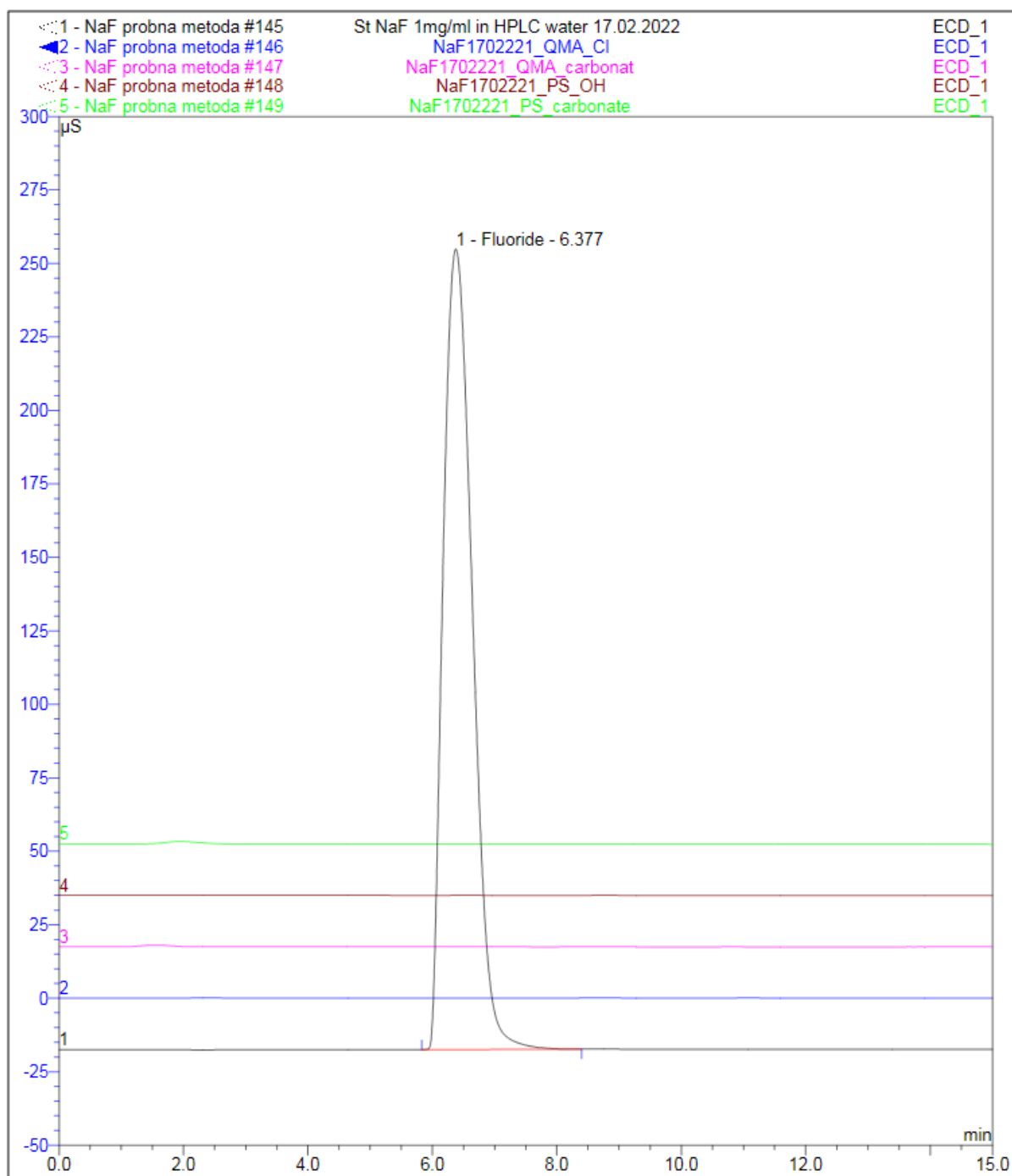
Слика 12. Хемиска чистота - преклопени хроматограми од NaF2101221_QMA_Cl, NaF2101221_QMA_Carb, NaF2101221_PS_OH, NaF2101221_PS_Carb

Figure 12. Chemical purity - overlay chromatograms NaF2101221_QMA_Cl, NaF2101221_QMA_Carb, NaF2101221_PS_OH, NaF2101221_PS_Carb



Слика 13. Хемиска чистота - преклопени хроматограми од NaF1602221_QMA_Cl, NaF1602221_QMA_Carb, NaF1602221_PS_OH, NaF1602221_PS_Carb

Figure 13. Chemical purity overlay chromatograms NaF1602221_QMA_Cl, NaF1602221_QMA_Carb, NaF1602221_PS_OH, NaF1602221_PS_Carb



Слика 14. Хемиска чистота - преклопени хроматограми од NaF1702221_QMA_Cl, NaF1702221_QMA_Carb, NaF1702221_PS_OH, NaF1702221_PS_Carb

Figure 14. Chemical purity overlay chromatograms NaF1702221_QMA_Cl, NaF1702221_QMA_Carb, NaF1702221_PS_OH, NaF1702221_PS_Carb

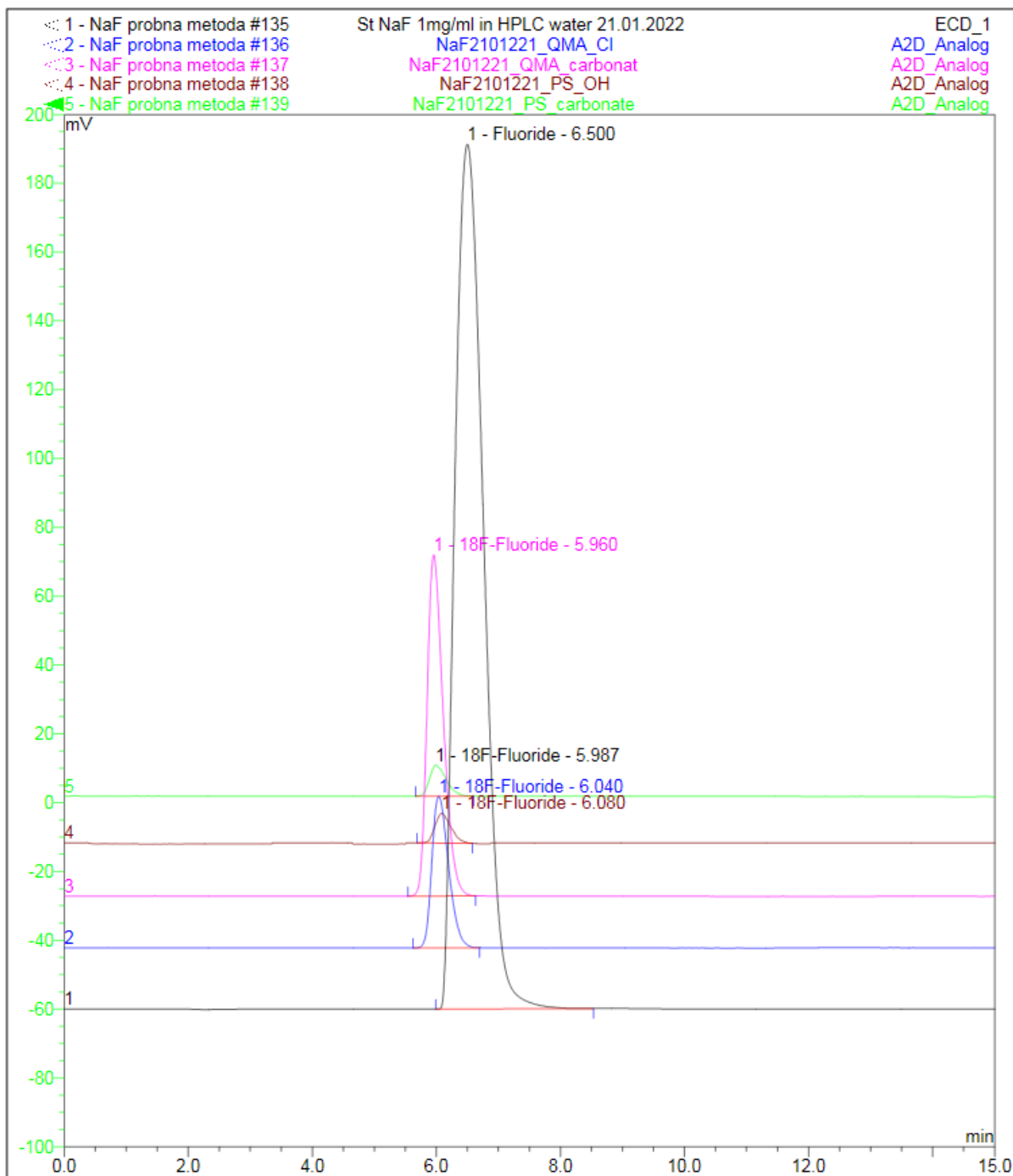
- **Радиокемиска чистота**

Радиокемиската чистота беше изведена со метод на високоперформансна течна хроматографија. Радиохроматограмите од испитаните примероци добиени со четирите типа на анијон-изменувачки кертриџи се претставени со преклопување на хроматограмите (слики 15, 16 и 17). Детектиран беше само пик од $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$, следствено на тоа радиокемиската чистота беше изразена како 100 % (табела 12).

Табела 12. Радиокемиска чистота на испитаните $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ примероци

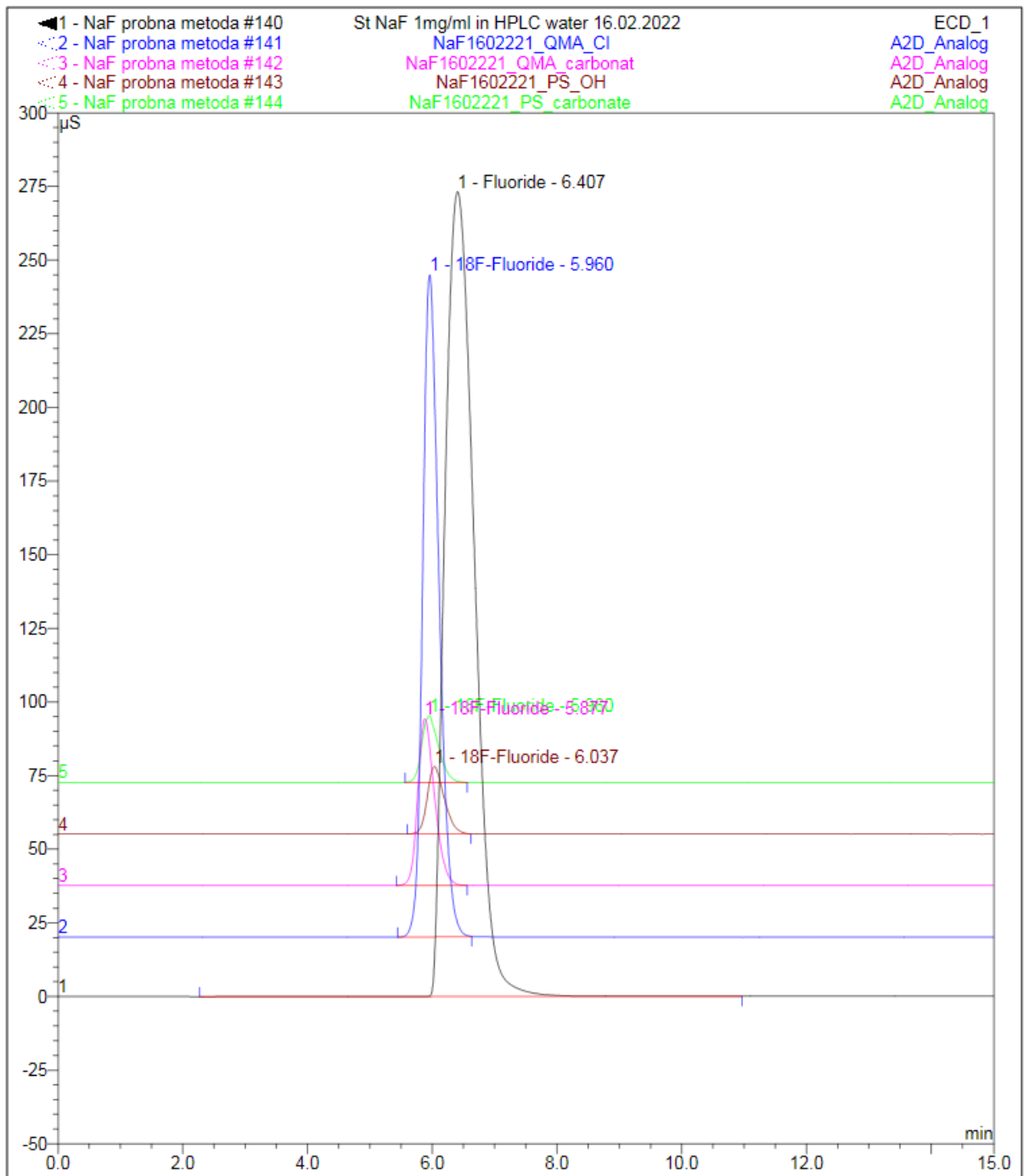
Table 12. Radiochemical purity of analyzed $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ samples

Серија / Batch	Радиокемиска чистота / Radiochemical purity (%)
NaF2101221_QMA_CI	100
NaF2101221_QMA_Carb	100
NaF2101221_PS_OH	100
NaF2101221_PS_Carb	100
NaF1602221_QMA_CI	100
NaF1602221_QMA_Carb	100
NaF1602221_PS_OH	100
NaF1602221_PS_Carb	100
NaF1702221_QMA_CI	100
NaF1702221_QMA_Carb	100
NaF1702221_PS_OH	100
NaF1702221_PS_Carb	100



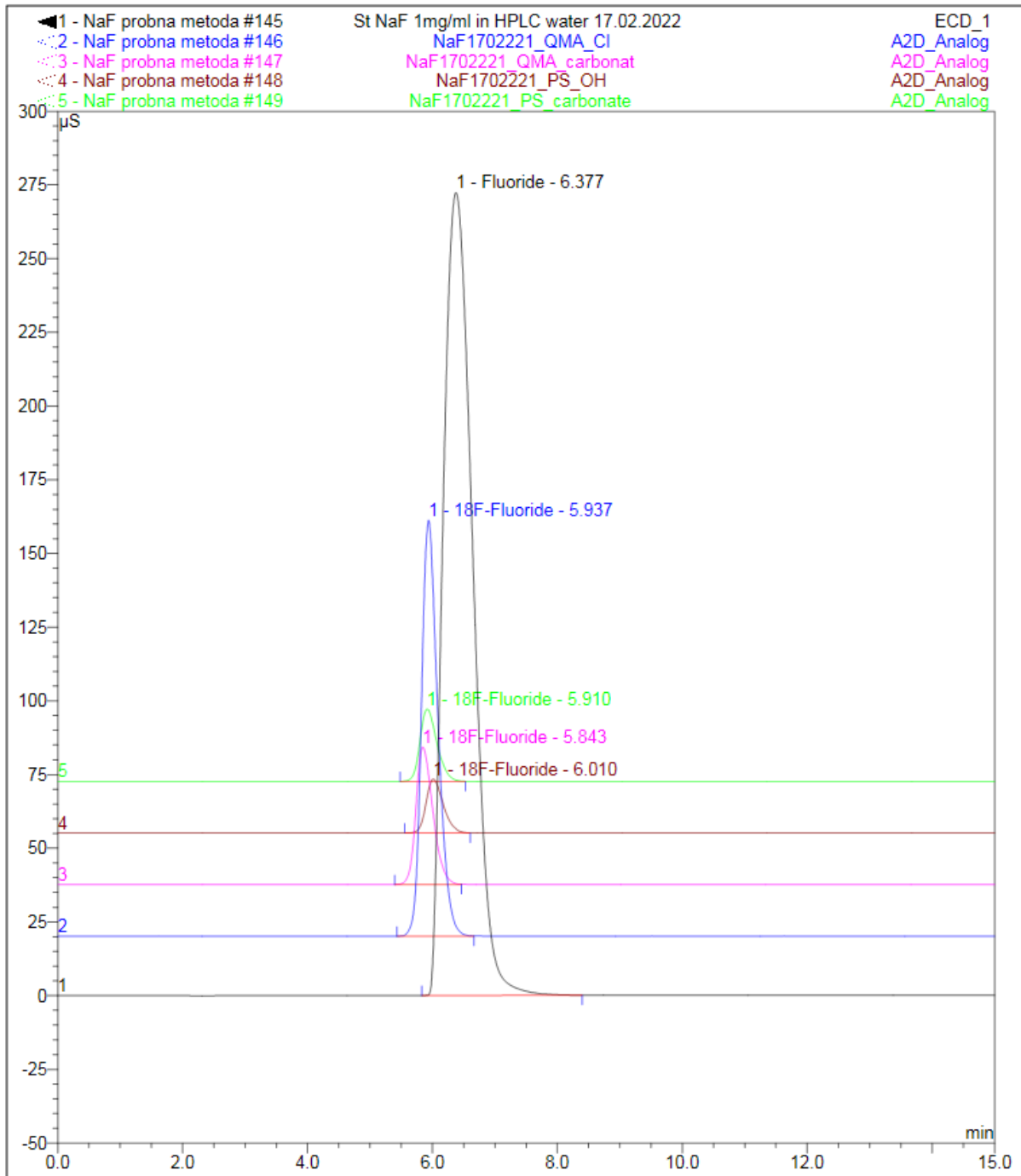
Слика 15. Радиохемиска чистота - преклопени хроматограми од NaF2101221_QMA_Cl, NaF2101221_QMA_Carb, NaF2101221_PS_OH, NaF2101221_PS_Carb

Figure 15. Radiochemical purity overlay chromatograms NaF2101221_QMA_Cl, NaF2101221_QMA_Carb, NaF2101221_PS_OH, NaF2101221_PS_Carb



Слика 16. Радиохемишка чистота - преклопени хроматограми од NaF1602221_QMA_Cl, NaF1602221_QMA_Carb, NaF1602221_PS_OH, NaF1602221_PS_Carb

Figure 16. Radiochemical purity overlay chromatograms NaF1602221_QMA_Cl, NaF1602221_QMA_Carb, NaF1602221_PS_OH, NaF1602221_PS_Carb



Слика 17. Радиохемиска чистота - преклопени хроматограми од NaF1702221_QMA_Cl, NaF1702221_QMA_Carb, NaF1702221_PS_OH, NaF1702221_PS_Carb

Figure 17. Radiochemical purity overlay chromatograms NaF1702221_QMA_Cl, NaF1702221_QMA_Carb, NaF1702221_PS_OH, NaF1702221_PS_Carb

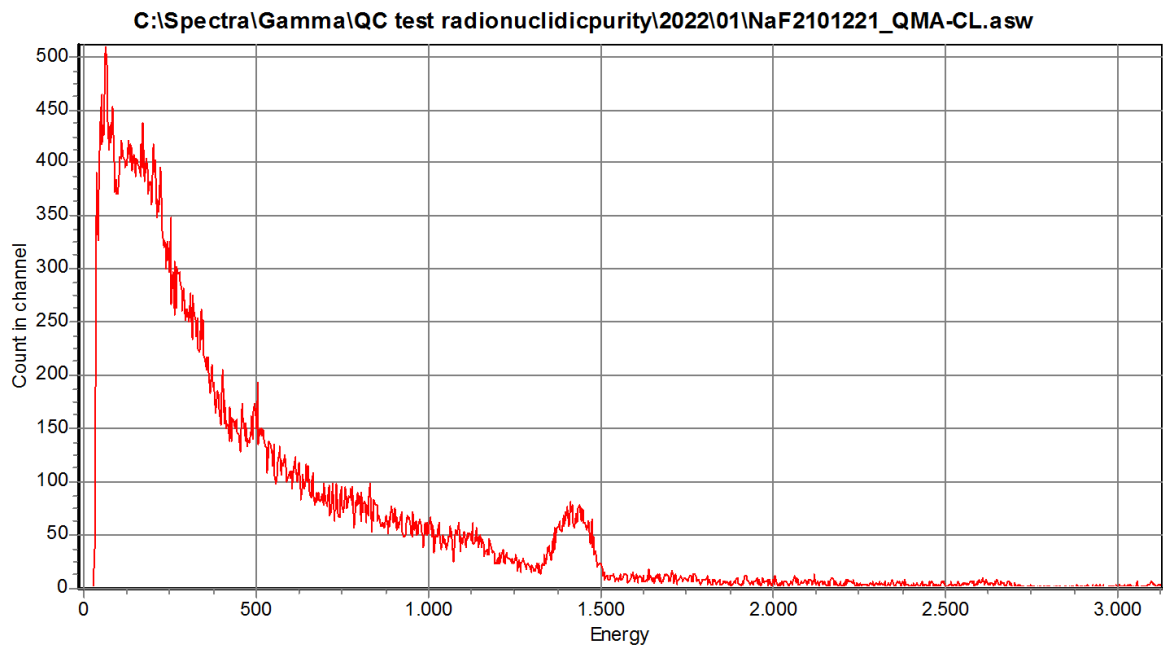
- **Радионуклидна чистота**

Радионуклидната чистота на финалните примероци од [¹⁸F]NaF беше одредена со метод на гама спектрометрија. Во табела 13 се прикажани добиените резултати од радионуклидна чистота изразени во проценти. На сликите со реден број од 18 до 29 се прикажани спектрите од радионуклидните онечистувања на произведените финални примероци.

Табела 13. Радионуклидна чистота на [¹⁸F]NaF примероци

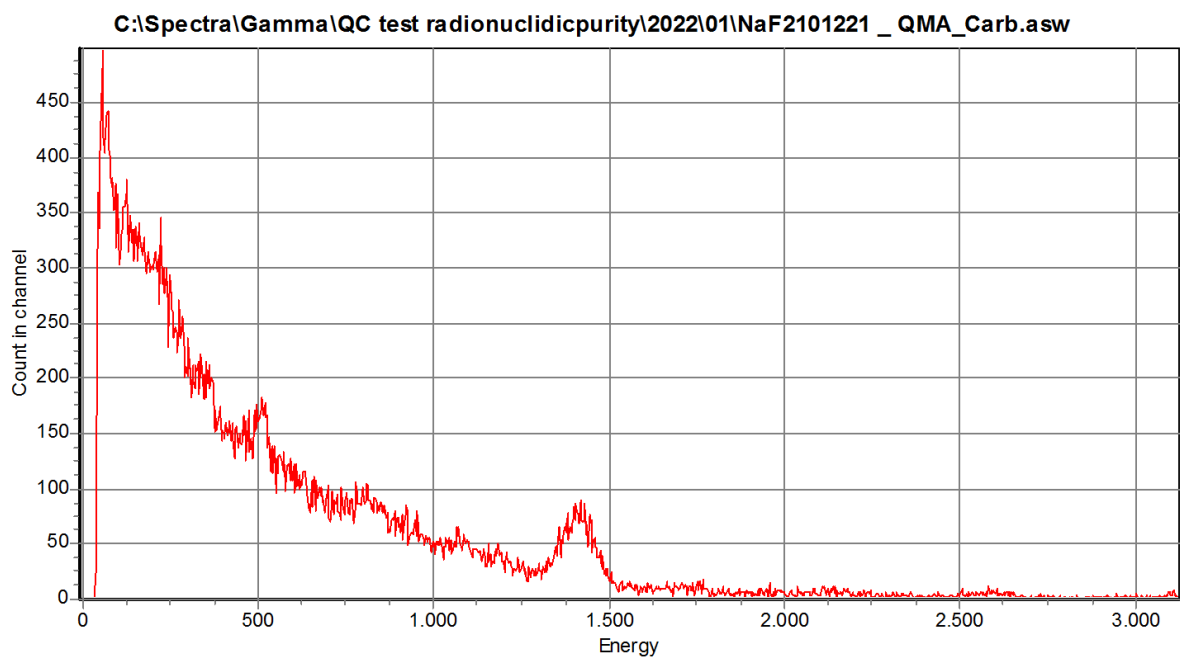
Table 13. Radionuclidic purity of [¹⁸F]NaF samples

Серија / Batch	Радионуклидна чистота / Radionuclidic purity (%)
NaF2101221_QMA_CI	2,10 x 10 ⁻⁰⁵
NaF2101221_QMA_Carb	1,98 x 10 ⁻⁰⁵
NaF2101221_PS_OH	2,82 x 10 ⁻⁰⁵
NaF2101221_PS_Carb	4,05 x 10 ⁻⁰⁵
NaF1602221_QMA_CI	2,56 x 10 ⁻⁰⁵
NaF1602221_QMA_Carb	8,02 x 10 ⁻⁰⁵
NaF1602221_PS_OH	1,62 x 10 ⁻⁰⁵
NaF1602221_PS_Carb	1,58 x 10 ⁻⁰⁵
NaF1702221_QMA_CI	4,78 x 10 ⁻⁰⁵
NaF1702221_QMA_Carb	7,71 x 10 ⁻⁰⁵
NaF1702221_PS_OH	1,57 x 10 ⁻⁰⁵
NaF1702221_PS_Carb	1,33 x 10 ⁻⁰⁵



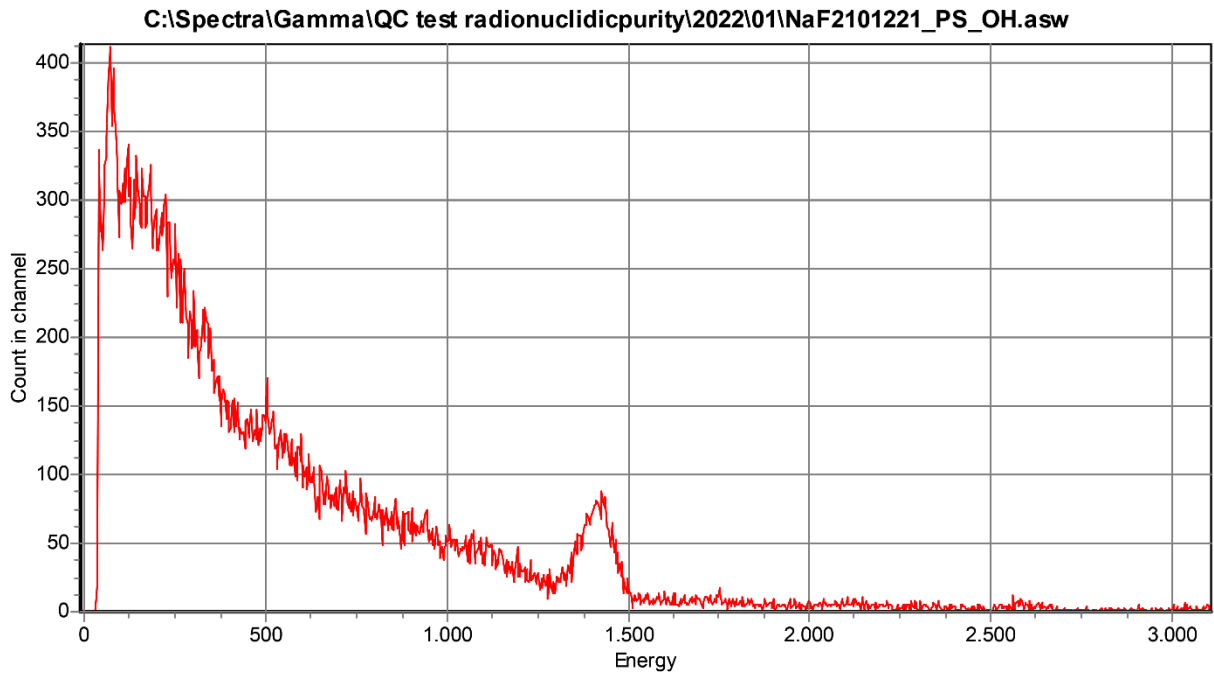
Слика 18. Гама спектар на NaF2101221 _ QMA_Cl (радионуклидна чистота)

Figure 18. Gamma spectrum NaF2101221 _ QMA_Cl (radionuclidic purity)



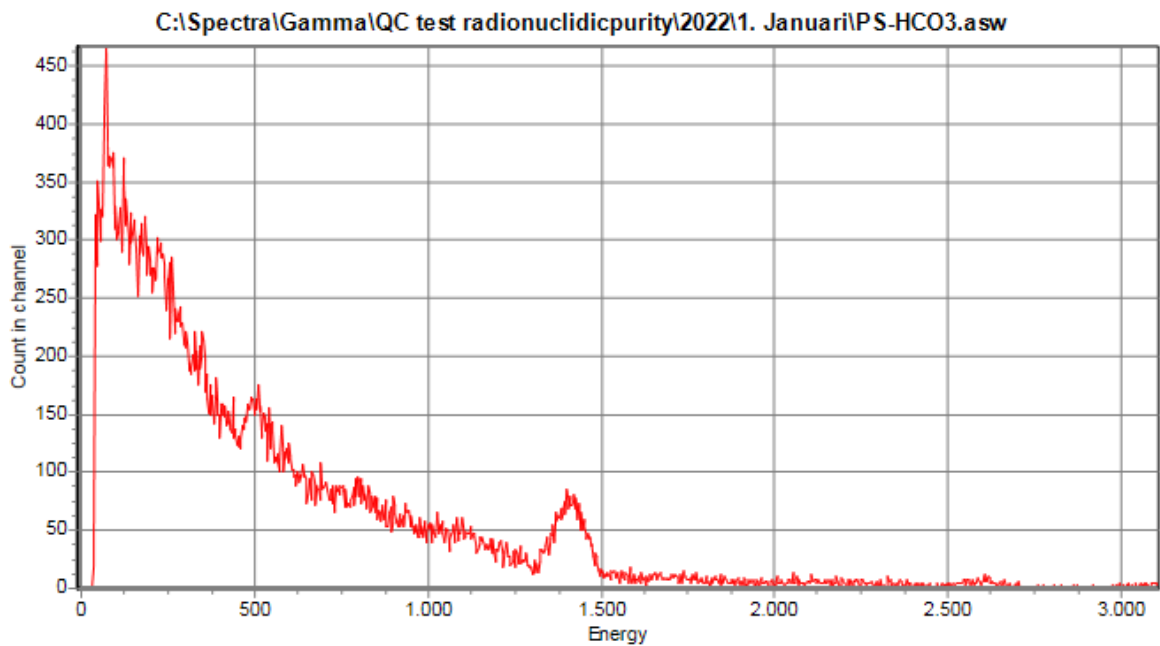
Слика 19. Гама спектар на NaF2101221 _ QMA_Carb (радионуклидна чистота)

Figure 19. Gamma spectrum of NaF2101221 _ QMA_Carb (radionuclidic purity)



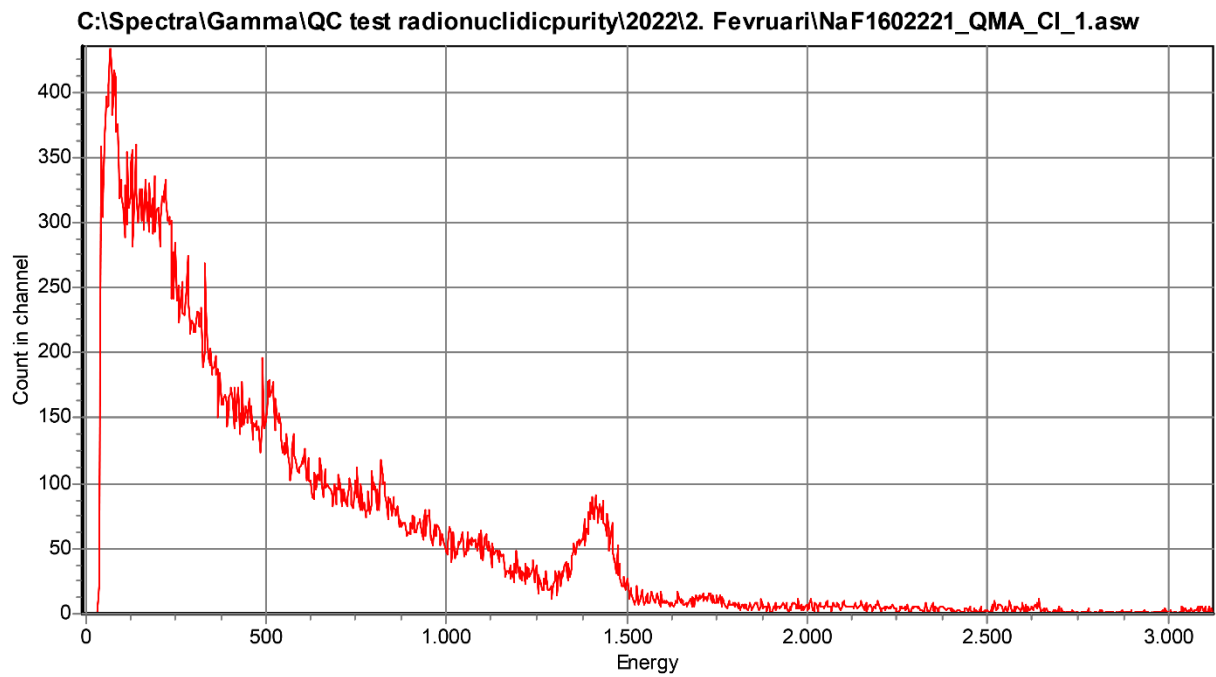
Слика 20. Гама спектар на NaF2101221 _ PS_OH (радионуклидна чистота)

Figure 20. Gamma spectrum NaF2101221 _ PS_OH (radionuclidic purity)



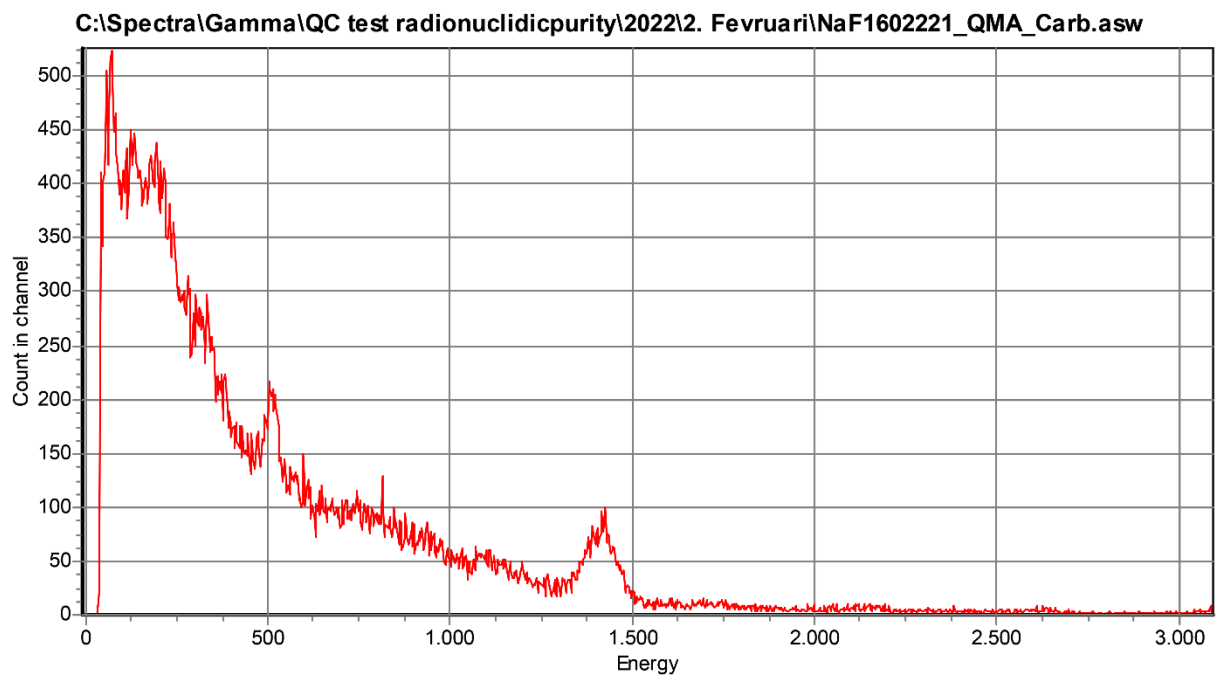
Слика 21. Гама спектар на NaF2101221 _ PS_Carb (радионуклидна чистота)

Figure 21. Gamma spectrum of NaF2101221 _ PS_Carb (radionuclidic purity)



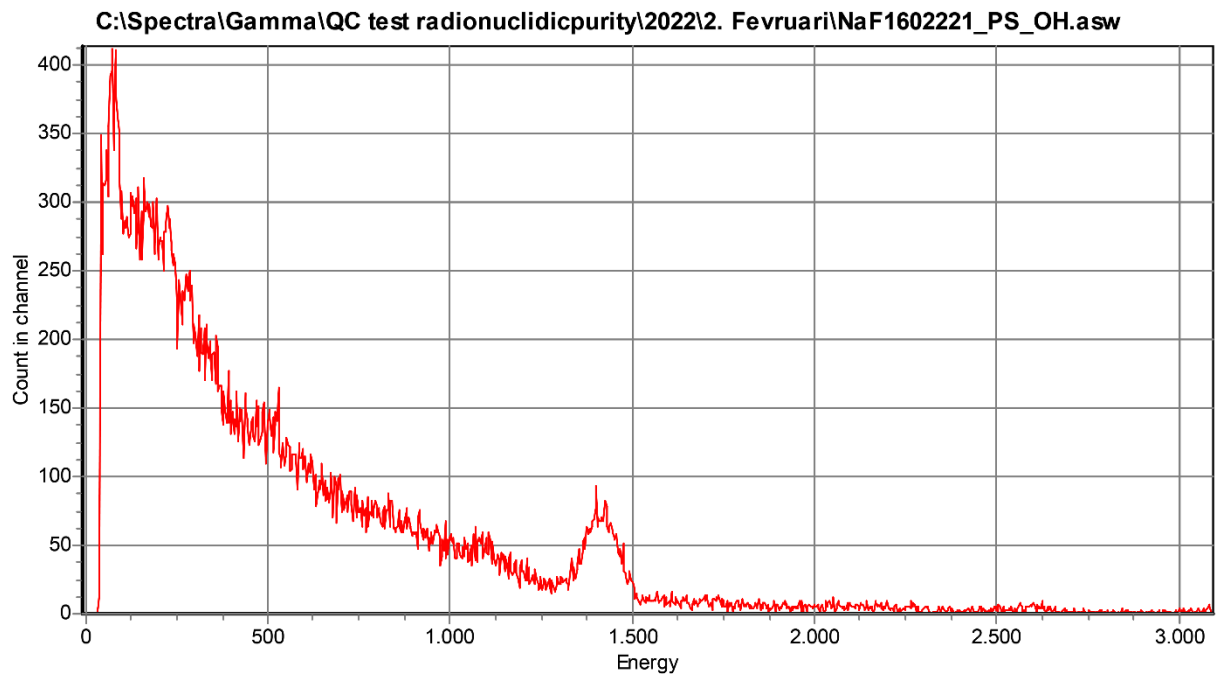
Слика 22. Гама спектар на NaF1602221 _ QMA_CI (радионуклидна чистота)

Figure 22. Gamma spectrum of NaF1602221 _ QMA_CI (radionuclidic purity)



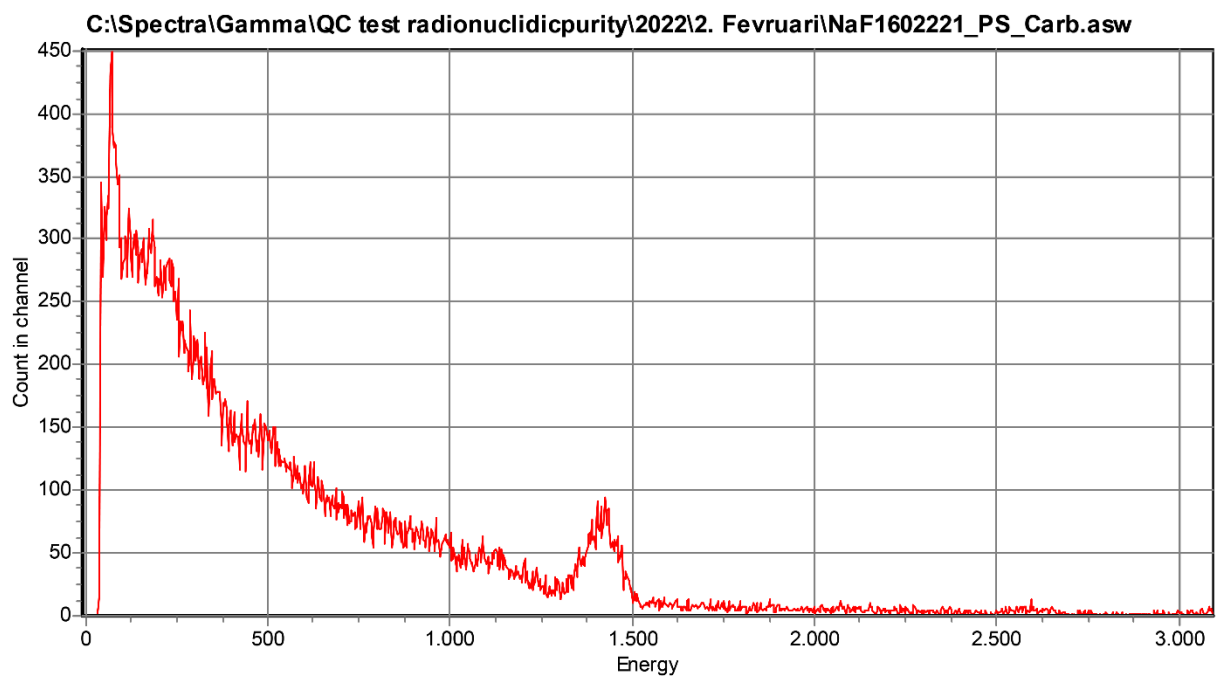
Слика 23. Гама спектар на NaF1602221 _ QMA_Carb (радионуклидна чистота)

Figure 23. Gamma spectrum of NaF1602221 _ QMA_Carb (radionuclidic purity)



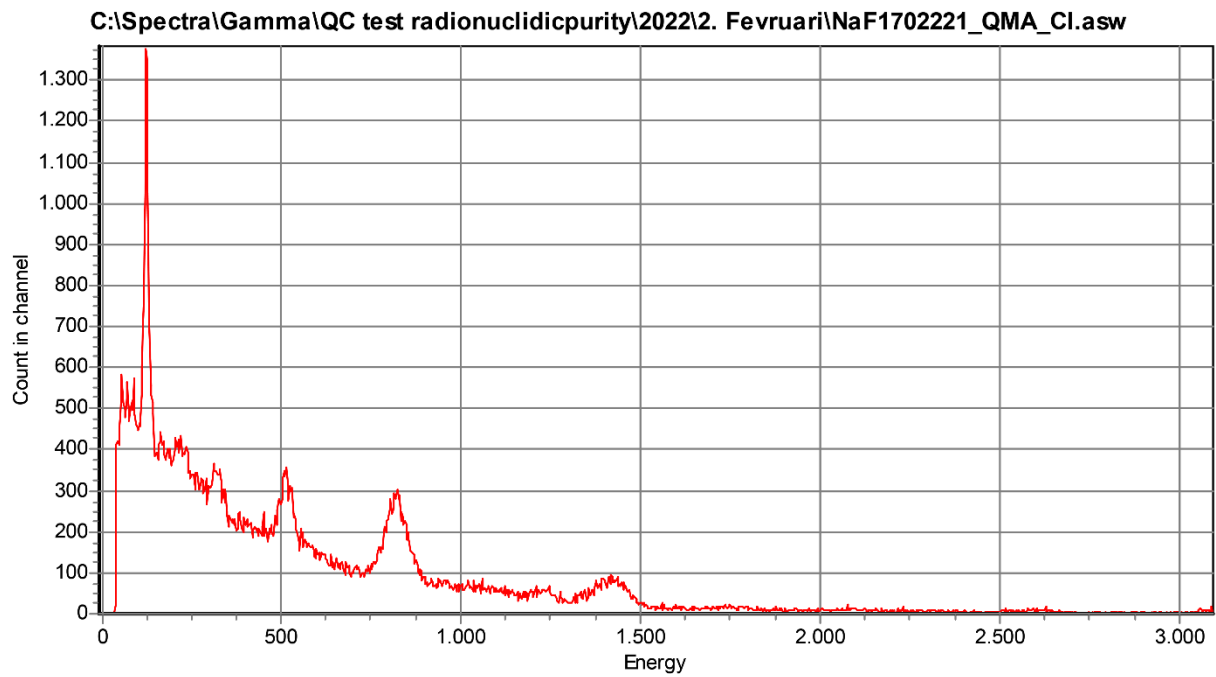
Слика 24. Гама спектар на NaF1602221 _ PS_OH (радионуклидна чистота)

Figure 24. Gamma spectrum of NaF1602221 _ PS_OH (radionuclidic purity)



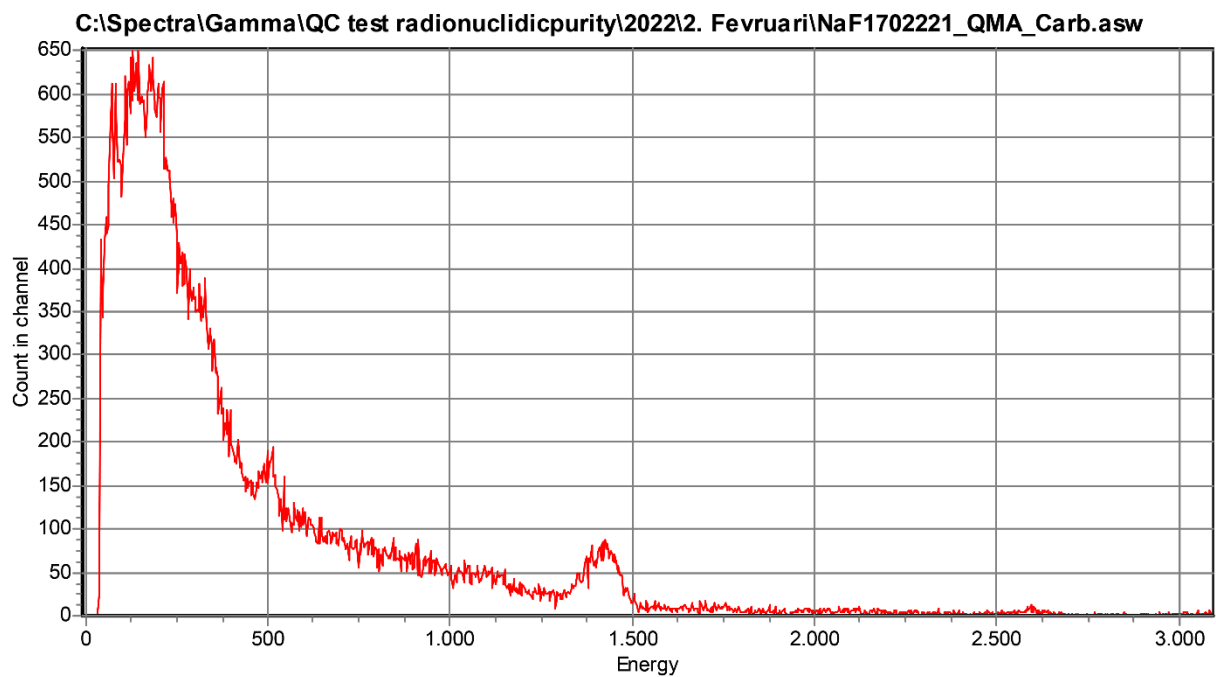
Слика 25. Гама спектар на NaF1602221 _ PS_Carb (радионуклидна чистота)

Figure 25. Gamma spectrum of NaF1602221 _ PS_Carb (radionuclidic purity)



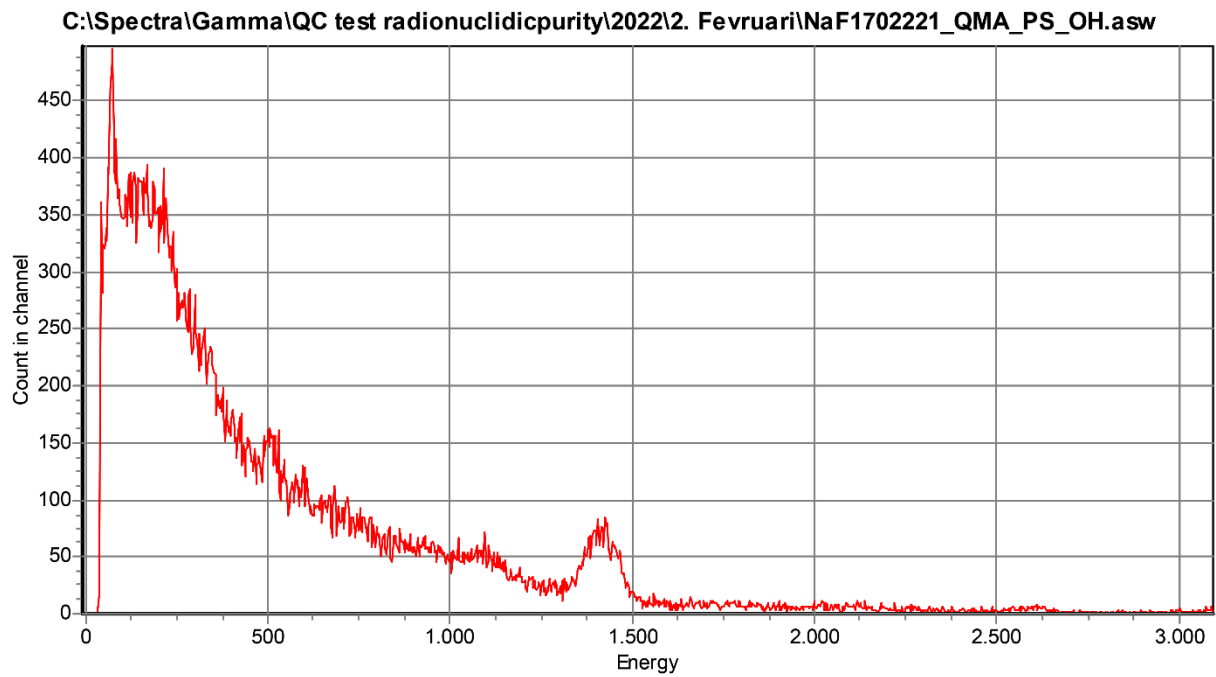
Слика 26. Гама спектар на NaF1702221 _ QMA_CI (радионуклидна чистота)

Figure 26. Gamma spectrum of NaF1702221 _ QMA_CI (radionuclidic purity)



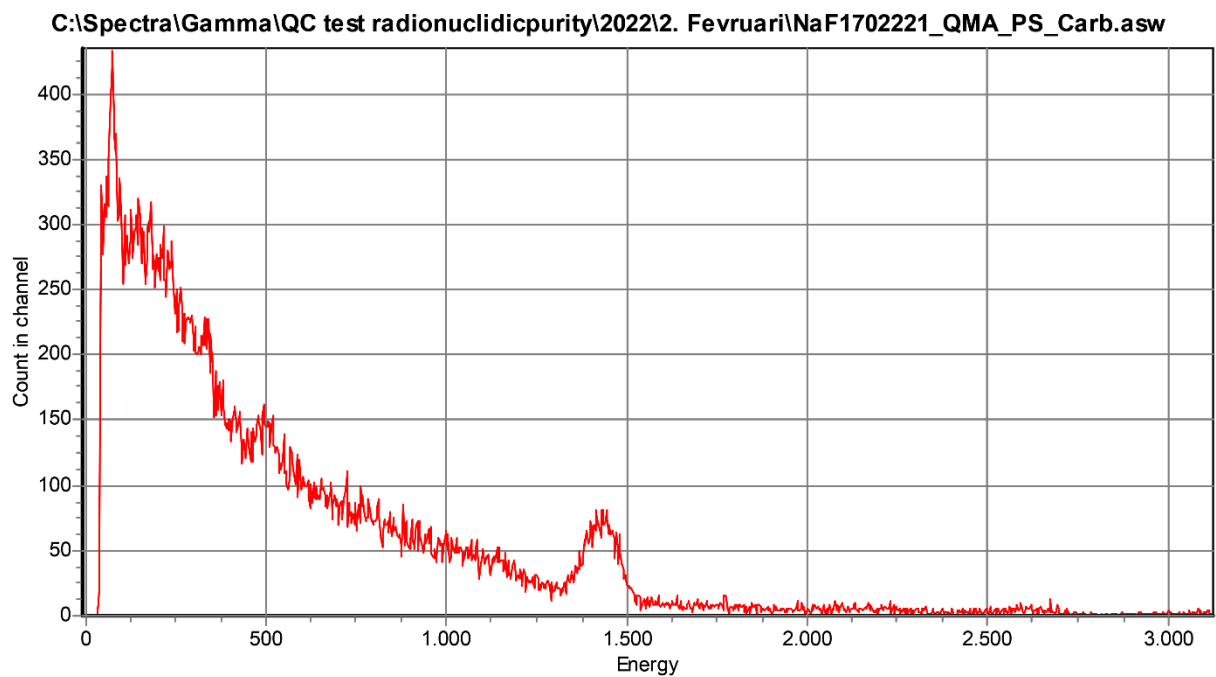
Слика 27. Гама спектар на NaF1702221 _ QMA_Carb (радионуклидна чистота)

Figure 27. Gamma spectrum of NaF1702221 _ QMA_Carb (radionuclidic purity)



Слика 28. Гама спектар на NaF1702221 _ PS_OH (радионуклидна чистота)

Figure 28. Gamma spectrum of NaF1702221 _ PS_OH (radionuclidic purity)



Слика 29. Гама спектар на NaF1702221 _ PS_Carb (радионуклидна чистота)

Figure 29. Gamma spectrum of NaF1702221 _ PS_Carb (radionuclidic purity)

5.3. Влијание на катјон-изменувачки кертриџ врз квалитетот на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик

Радионуклидната чистота на финалниот примерок е во директна зависност со чекорот прочистување, односно екстракција на радиоизотопот $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ од озрачената вода збогатена со ^{18}O . Прочистувањето на создадените радионуклидни онечистувања може да биде изведено само со анјон-изменувачки кертриџ или со комбинација на анјон и катјон-изменувачки кертриџи. За да се процени влијанието на катјон-изменувачкиот кертриџ врз квалитетот на финалниот $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик беа изведени три проби (со три комбинации на кертриџи) кои беа повторени по четири пати (метод 4.2.1.2.).

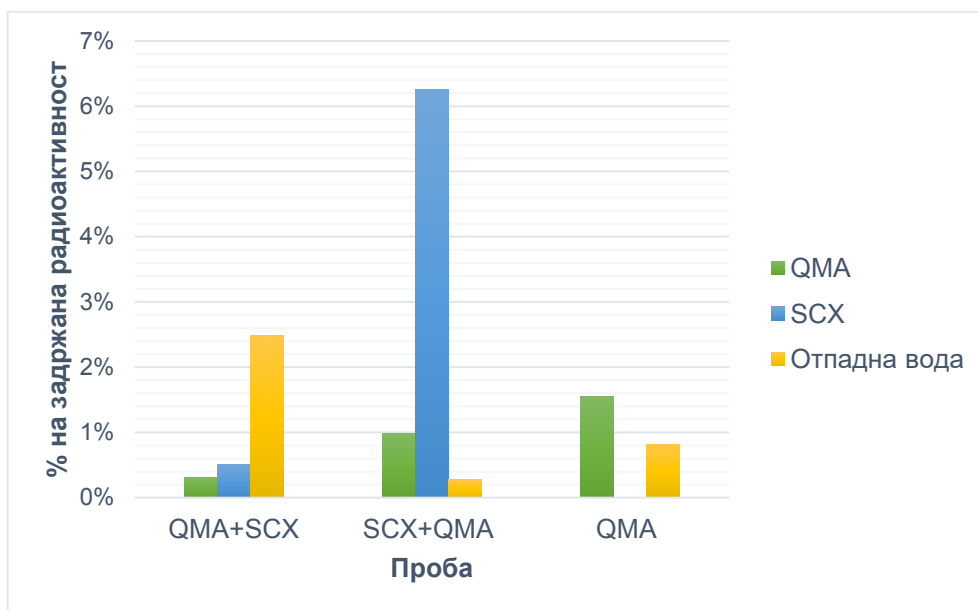
- **Задржана радиоактивност на кертриџите за прочистување**

Во табела 14 и на слика 30 е прикажана задржаната радиоактивност на секој кертриџ, како и радиоактивноста на отпадна вода (RW) и приносот на финалниот производ $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ на сите произведени серии.

Табела 14. Задржана радиоактивност и принос со користење на комбинација на кертриџ за прочистување

Table 14. Retained radioactivity and yield using combination of purification cartridges

Серија / Batch	Задржана радиоактивност / Retained radioactivity (%)			Принос / Yield (%)	
	QMA	SCX	RW	d.c.	n.d.c.
NaF2209211_QMA + SCX	0,446	0,586	2,657	82,13	72,83
NaF2209211_SCX + QMA	0,585	7,625	0,153	85,07	77,86
NaF2209211_QMA	5,121	/	0,804	86,77	83,54
NaF2809211_QMA + SCX	0,270	0,583	2,079	95,82	92,83
NaF2809211_SCX + QMA	0,592	5,158	0,081	80,02	78,51
NaF2809211_QMA	0,315	/	0,817	93,89	90,97
NaF0610211_QMA + SCX	0,263	0,387	2,621	87,71	84,44
NaF0610211_SCX + QMA	1,083	5,672	0,366	85,30	82,60
NaF0610211_QMA	0,353	/	1,245	89,54	86,76
NaF1110211_QMA + SCX	0,237	0,480	2,568	91,13	87,74
NaF1110211_SCX + QMA	1,661	4,087	0,484	91,29	89,01
NaF1110211_QMA	0,394	/	0,386	89,61	87,37



Слика 30. Задржана радиоактивност на кертриците за прочистување

Figure 30. Retained radioactivity on purification cartridge

Во првата проба (комбинација на QMA + SCX-кертрици) на QMA-кертриџот беше задржана радиоактивност од 0,304 % ± 0,096 %, на SCX-кертриџот 0,509 % ± 0,0095 % од вкупно произведената радиоактивност и во отпадната вода имаше 2,481 % ± 0,2705 % од вкупно произведената радиоактивност.

При производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ со користење на втората проба (комбинација на SCX + QMA-кертрици) најмал процент на радиоактивност имаше во отпадната вода и тоа 0,271 % ± 0,187 %. Најголем процент 6,252 % ± 1,712 % беше задржан на SCX-кертриџот, а на QMA-кертриџот беше задржана радиоактивност од 1,032 % ± 0,465 %.

Во третата проба, со користење само на анјон-изменувачки кертриџ (QMA), задржаната радиоактивност на кертриџот по елуција беше 0,401% ± 0,100 %, а во отпадната вода 0,813 % ± 0,351 %.

На сите дванаесет произведени серии на финален производ беа анализирани следниве параметри: pH-вредност, идентификација, радиохемиската, хемиската и радионуклидната чистота. Радионуклидната чистота, освен на финалниот примерок, беше испитана и на отпадната вода.

- ***pH вредност на испитаните серији***

Приближната pH-вредност беше одредена со pH-ленти во опсег од 0 до 14 pH-единици. Во табела 15 се прикажани измерените приближни pH-вредности за сите проби.

Табела 15. Приближна pH-вредност на [¹⁸F]NaF примероци

Table 15. Approximate pH value of [¹⁸F]NaF samples

Проба / Experiment	Серија / Batch	pH (5,5 - 8,0)
1. QMA + SCX	NaF2209211_QMA + SCX	0,5 - 1
	NaF2809211_QMA + SCX	
	NaF0610211_QMA + SCX	
	NaF1110211_QMA + SCX	
2. SCX + QMA	NaF2209211_SCX + QMA	6,5 - 7
	NaF2809211_SCX + QMA	
	NaF0610211_SCX + QMA	
	NaF1110211_SCX + QMA	
3. QMA	NaF2209211	6,5 - 7
	NaF2809211	
	NaF0610211	
	NaF1110211	

- ***Идентификација***

- *Период на полураспаѓање*

Добиените резултати од мерење на период на полураспаѓање се прикажани во табела 16. Резултатите добиени со три последователни мерења на примерокот во ист дозен калибратор го идентификуваа [¹⁸F]F⁻ радиоизотопот. Резултатите од сите мерења беа во критериумот на прифатливост од 1,75 до 1,92 часа.

Табела 16. Идентификација - период на полураспаѓање на $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ радиоизотоп

Table 16. Identification - half-life of $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ radioisotope

Серија / Batch	Период на полураспаѓање / Half-life (h)
NaF2209211_QMA + SCX	1,83
NaF2209211_SCX + QMA	1,85
NaF2209211	1,82
NaF2809211_QMA + SCX	1,83
NaF2809211_SCX + QMA	1,85
NaF2809211	1,83
NaF0610211_QMA + SCX	1,79
NaF0610211_SCX + QMA	1,83
NaF0610211	1,82
NaF1110211_QMA + SCX	1,82
NaF1110211_SCX + QMA	1,86
NaF1110211	1,83

○ *Разлика во ретенционо време*

Разликата во ретенционите времиња на главниот пик на радиохроматограмот на испитуваниот примерок и ретенционото време на главниот пик од хроматограмот на стандардниот раствор од NaF добиен со кондуктометрискиот детектор (слики од 35 до 39) се прикажани во табела 17. Критериум на прифатливост е помалку од 40 секунди.

Табела 17. Идентификација - разлика во ретенционо време на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$

Table 17. Identification - difference in retention time of $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$

Серија / Batch	Rt St (min)	Rt A (min)	Разлика Rt / Rt difference (s)
NaF2209211_QMA + SCX	5,55	5,09	27,00
NaF2209211_SCX + QMA	5,55	5,01	32,40
NaF2209211	5,55	5,01	32,22
NaF2809211_QMA + SCX	6,22	5,75	28,20
NaF2809211_SCX + QMA	6,22	5,67	32,82
NaF2809211	6,22	5,60	37,02
NaF0610211_QMA + SCX	6,37	5,94	25,80
NaF0610211_SCX + QMA	6,37	5,83	32,40
NaF0610211	6,37	6,00	22,20
NaF1110211_QMA + SCX	5,667	5,20	27,42
NaF1110211_SCX + QMA	5,66	5,09	33,84
NaF1110211	5,66	5,02	38,38

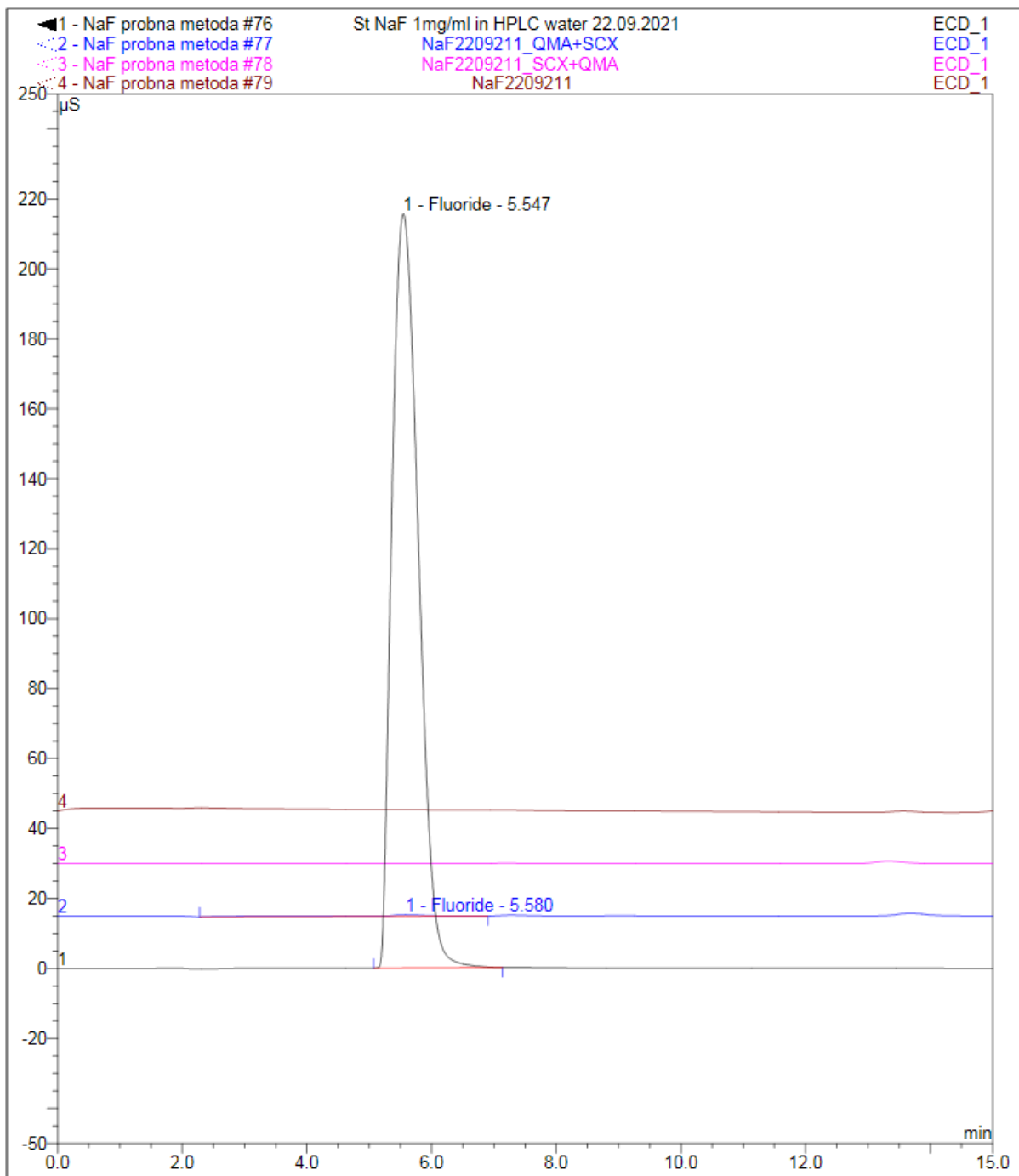
- **Хемиска чистота**

Хемиската чистота беше определена со метод на високоперформансна течна хроматографија (метод 4.2.2.3.). Концентрацијата на присутниот нерадиоактивен флуорид како хемиско онечистување беше пресметана преку површините под соодветните пикови од хроматограмите на стандардниот раствор и примероците добиени со кондуктометриски детектор. На сликите 31, 32, 33 и 34 се прикажани преклопените хроматограми од финалните примероци и стандардниот раствор добиени со кондуктометриски детектор. Во табела 18 се прикажани резултатите од хемиска чистота и концентрацијата на F⁻ е изразена во mg/mL.

Табела 18. Хемиска чистота на [¹⁸F]NaF примероци

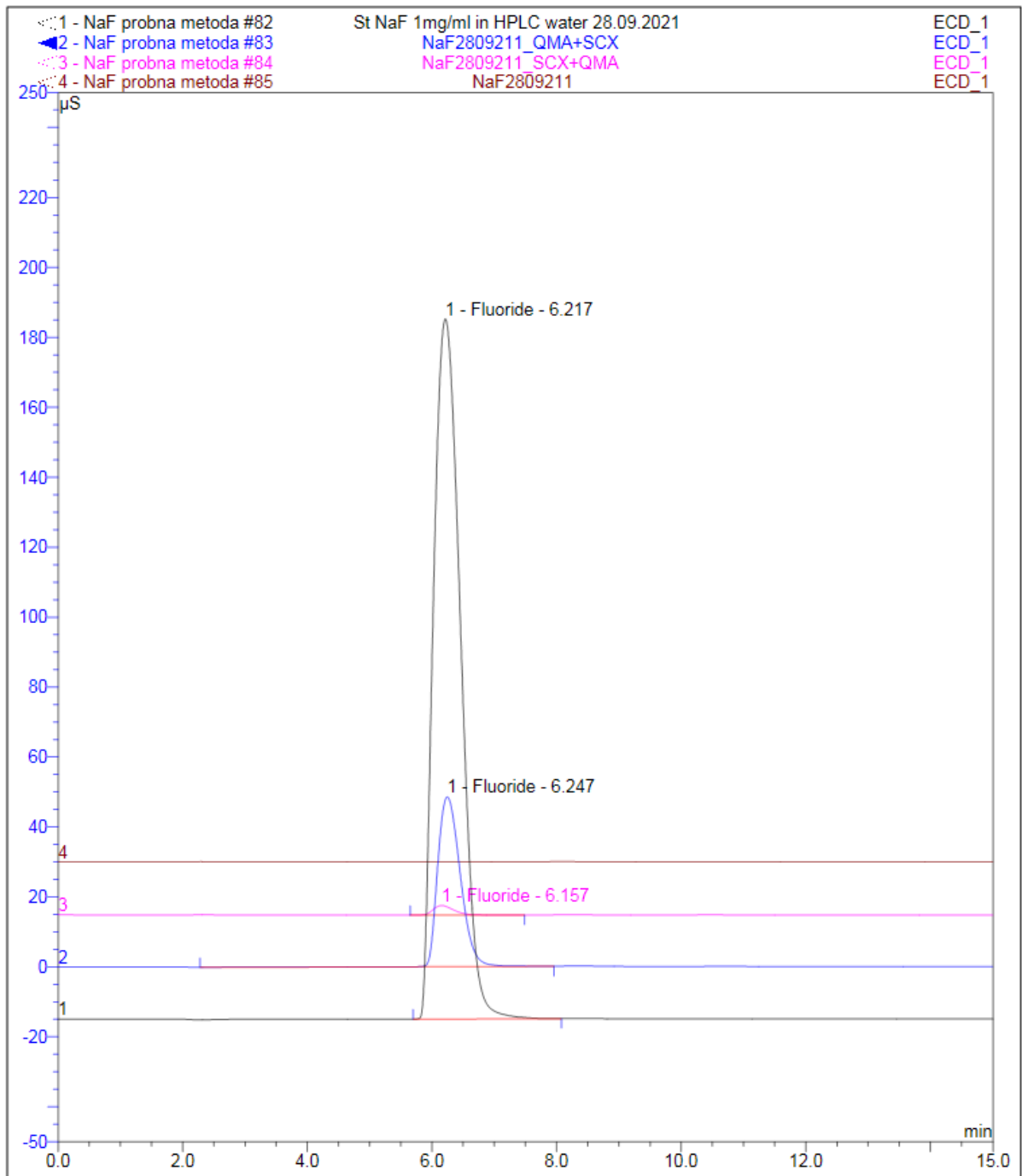
Table 18. Chemical purity of [¹⁸F]NaF samples

Серија / Batch	AUC St ($\mu\text{S}\cdot\text{min}$)	AUC A ($\mu\text{S}\cdot\text{min}$)	F ⁻ (mg/mL)
NaF2209211_QMA + SCX	105,90	0,66	0,0028
NaF2209211_SCX + QMA	105,90	0	0
NaF2209211	105,90	0	0
NaF2809211_QMA + SCX	100,12	20,64	0,0932
NaF2809211_SCX + QMA	100,12	1,06	0,0048
NaF2809211	100,13	0	0
NaF0610211_QMA + SCX	117,73	0	0
NaF0610211_SCX + QMA	117,73	0	0
NaF0610211	117,73	0	0
NaF1110211_QMA + SCX	123,95	0	0
NaF1110211_SCX + QMA	123,95	0	0
NaF1110211	123,95	0	0



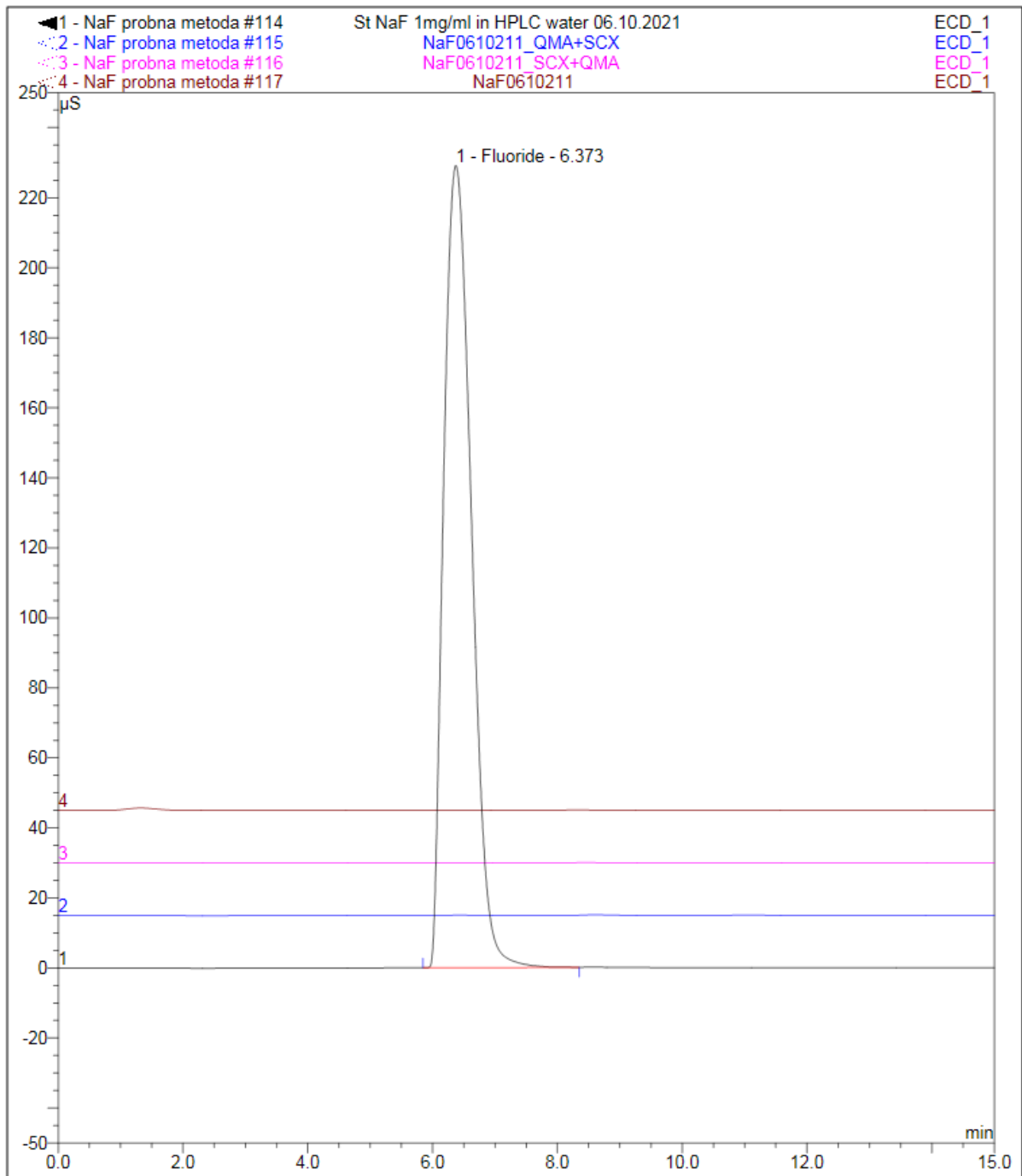
Слика 31. Хемиска чистота - преклопени хроматограми од NaF2209211 _ QMA + SCX, NaF2209211_SCX + QMA, NaF2209211

Figure 31. Chemical purity overlay chromatograms NaF2209211 _ QMA + SCX, NaF2209211_SCX + QMA, NaF2209211



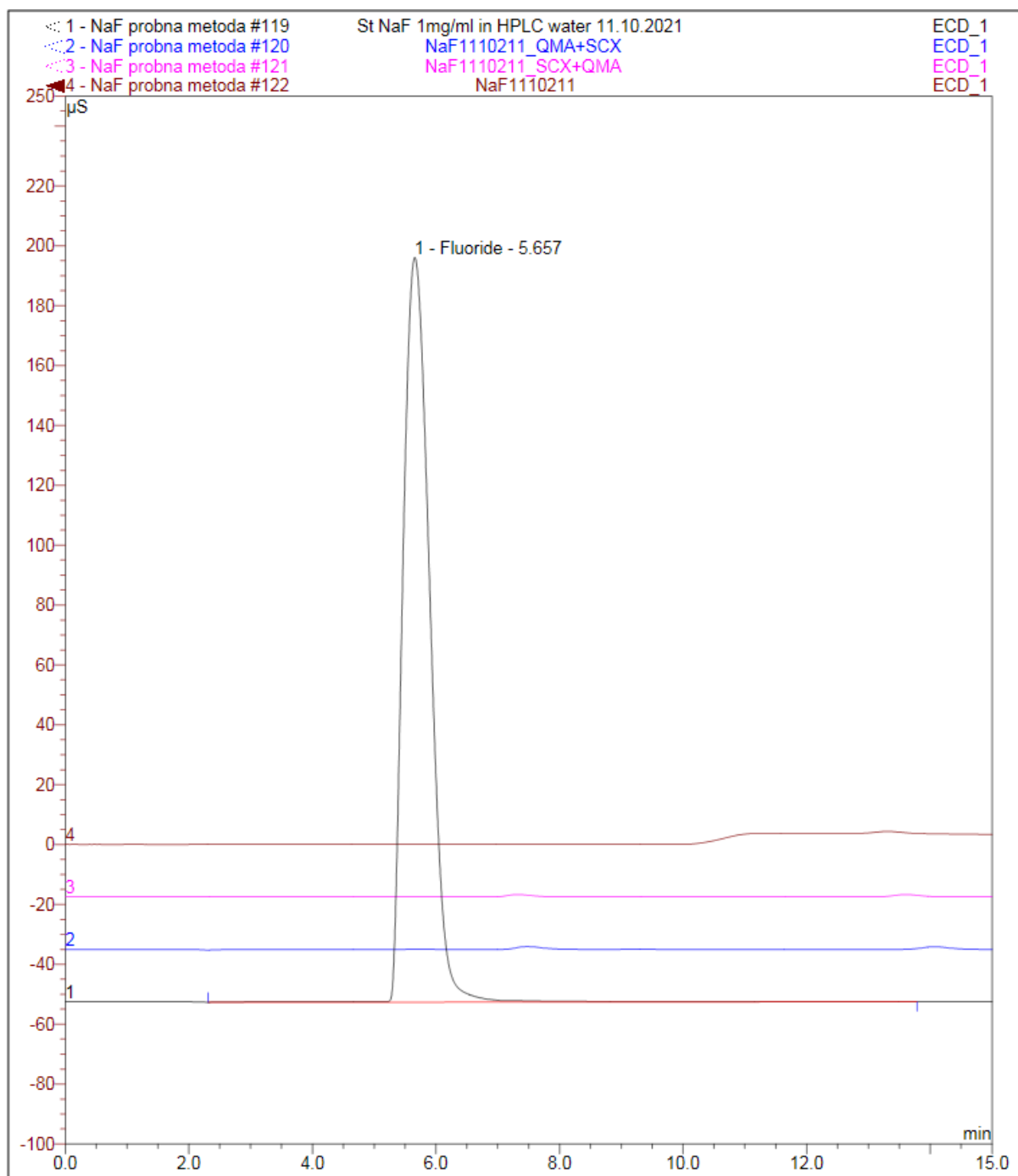
Слика 32. Хемиска чистота - преклопени хроматограми од NaF2809211 _ QMA + SCX, NaF2809211_SCX + QMA, NaF2809211

Figure 32. Chemical purity overlay chromatograms NaF2809211 _ QMA + SCX, NaF2809211_SCX + QMA, NaF2809211



Слика 33. Хемиска чистота - преклопени хроматограми од NaF0610211 _ QMA + SCX, NaF0610211_SCX + QMA, NaF0610211

Figure 33. Chemical purity overlay chromatograms NaF0610211 _ QMA + SCX, NaF0610211_SCX + QMA, NaF0610211



Слика 34. Хемиска чистота - преклопени хроматограми од NaF1110211 _ QMA + SCX, NaF1110211_SCX + QMA, NaF1110211

Figure 34. Chemical purity overlay chromatograms NaF1110211 _ QMA + SCX, NaF1110211_SCX + QMA, NaF1110211

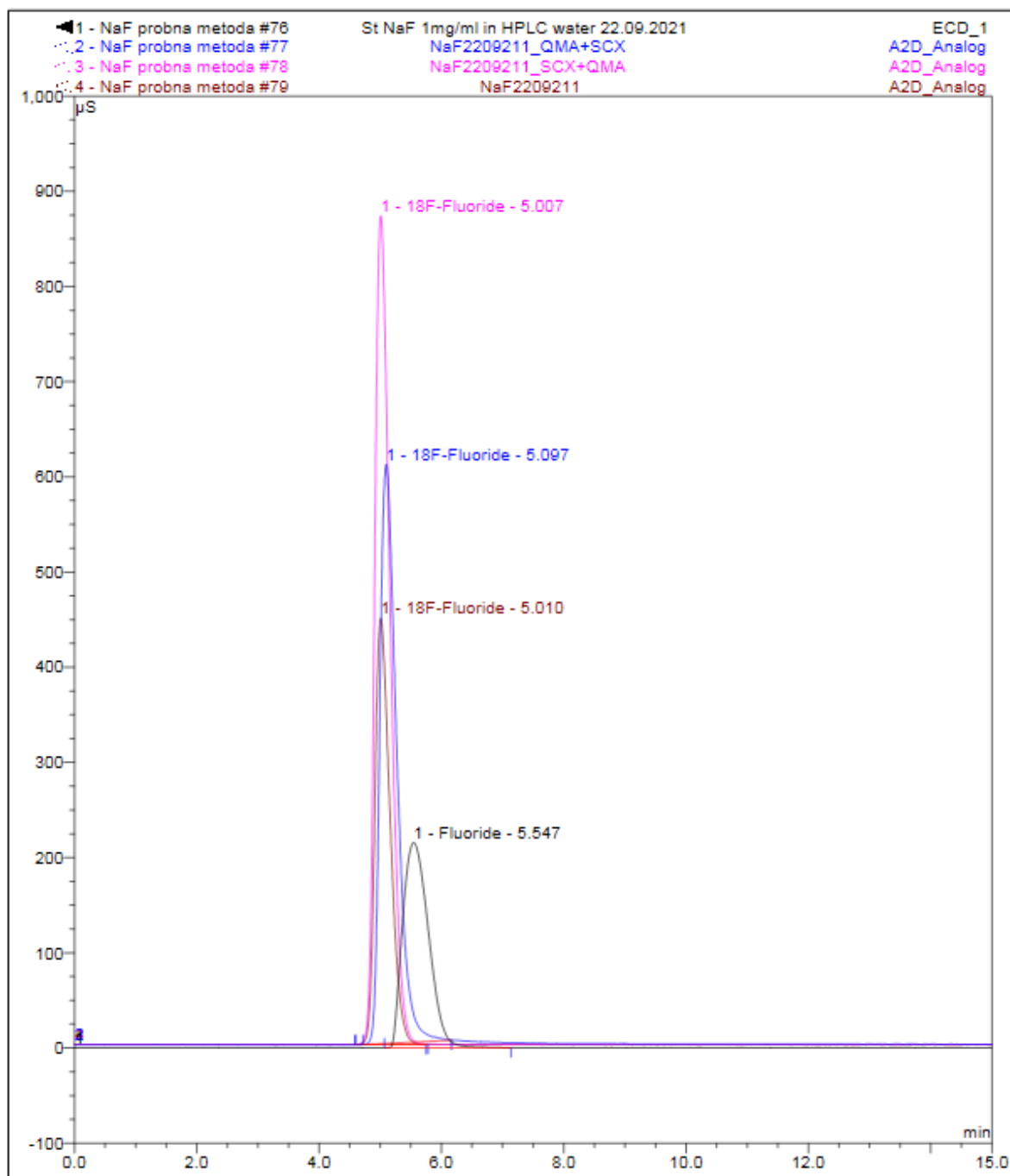
- **Радиокемиска чистота**

Радиокемиската чистота беше изведена со метод на високоперформансна течна хроматографија, со анализа на радиохроматограмите на примероците од [¹⁸F]NaF раствор за инјектирање. Резултатите од испитување на параметарот радиокемиска чистота се прикажани во табела 19, а добиените радиохроматограми од финалните примероци се прикажани на сликите 35 - 38.

Табела 19. Радиокемиска чистота на [¹⁸F]NaF примероци

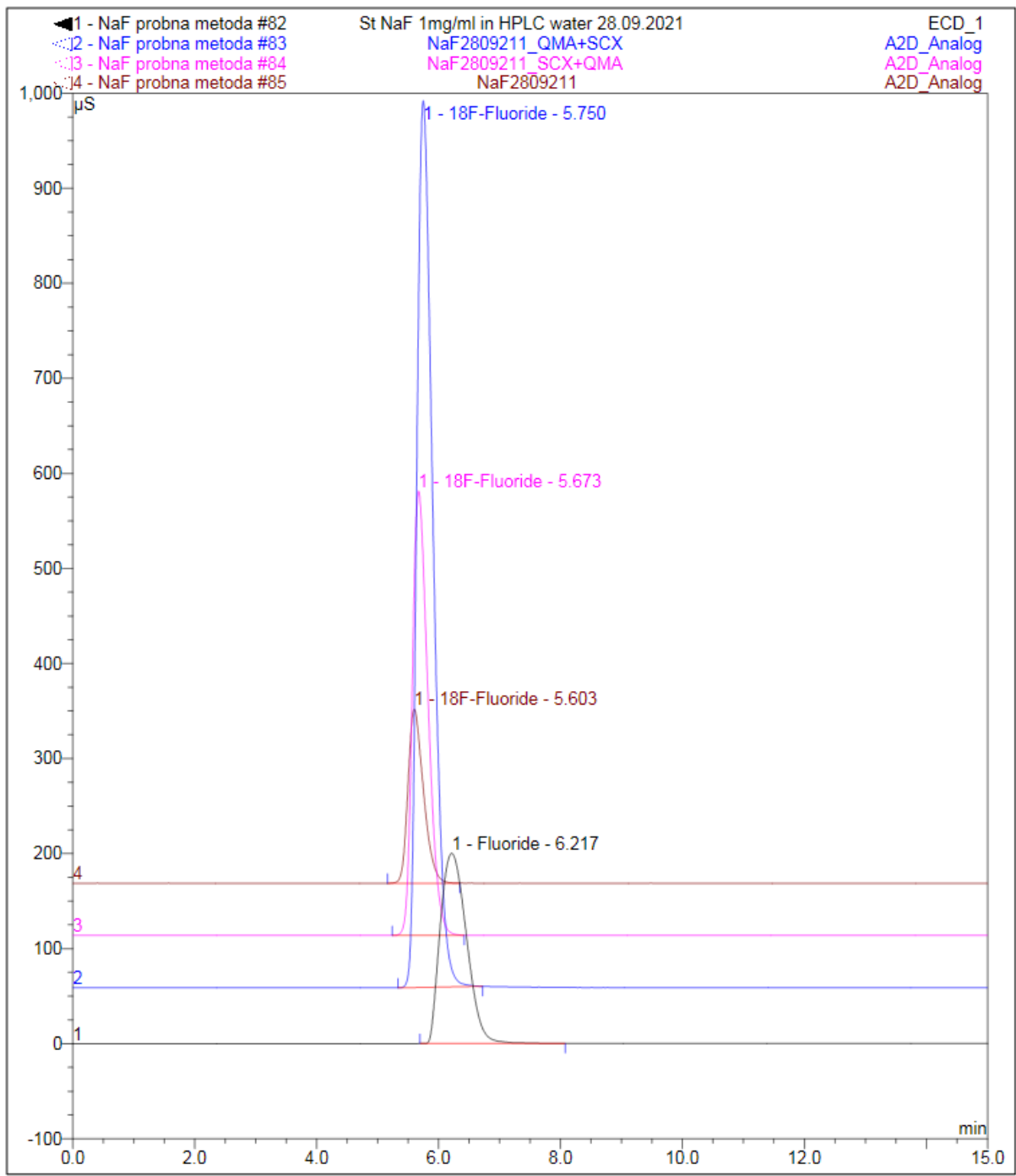
Table 19. Radiochemical purity of [¹⁸F]NaF samples

Серија / Batch	Радиокемиска чистота / Radiochemical purity (%)
NaF2209211_QMA + SCX	100
NaF2209211_SCX + QMA	100
NaF2209211	100
NaF2809211_QMA + SCX	100
NaF2809211_SCX + QMA	100
NaF2809211	100
NaF0610211_QMA + SCX	100
NaF0610211_SCX + QMA	100
NaF0610211	100
NaF1110211_QMA + SCX	100
NaF1110211_SCX + QMA	100
NaF1110211	100



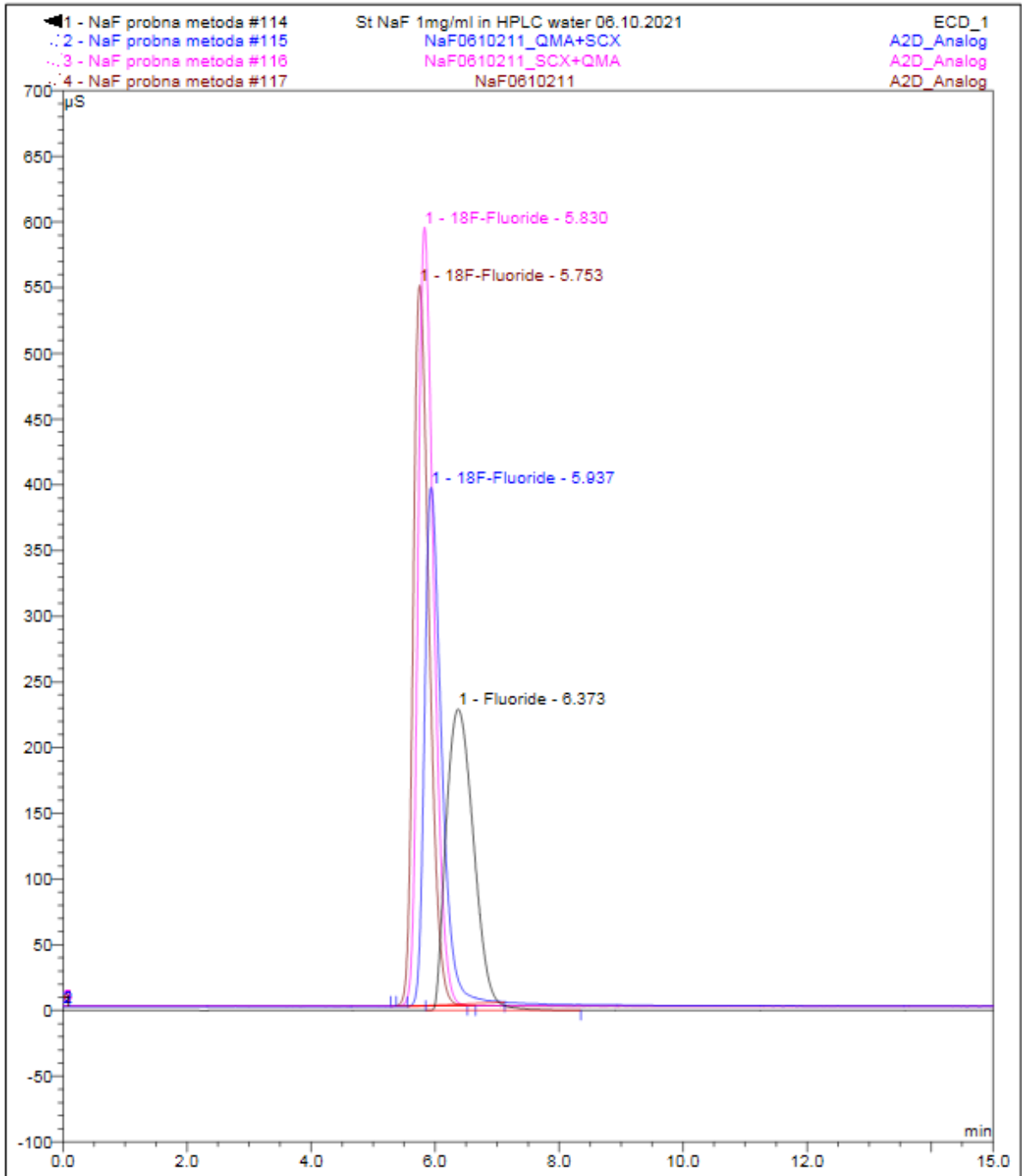
Слика 35. Радиохемишка чистота - преклопени хроматограми од NaF2209211 _ QMA + SCX, NaF2209211_SCX + QMA, NaF2209211

Figure 35. Radiochemical purity overlay chromatograms NaF2209211 _ QMA + SCX, NaF2809211_SCX + QMA, NaF2809211



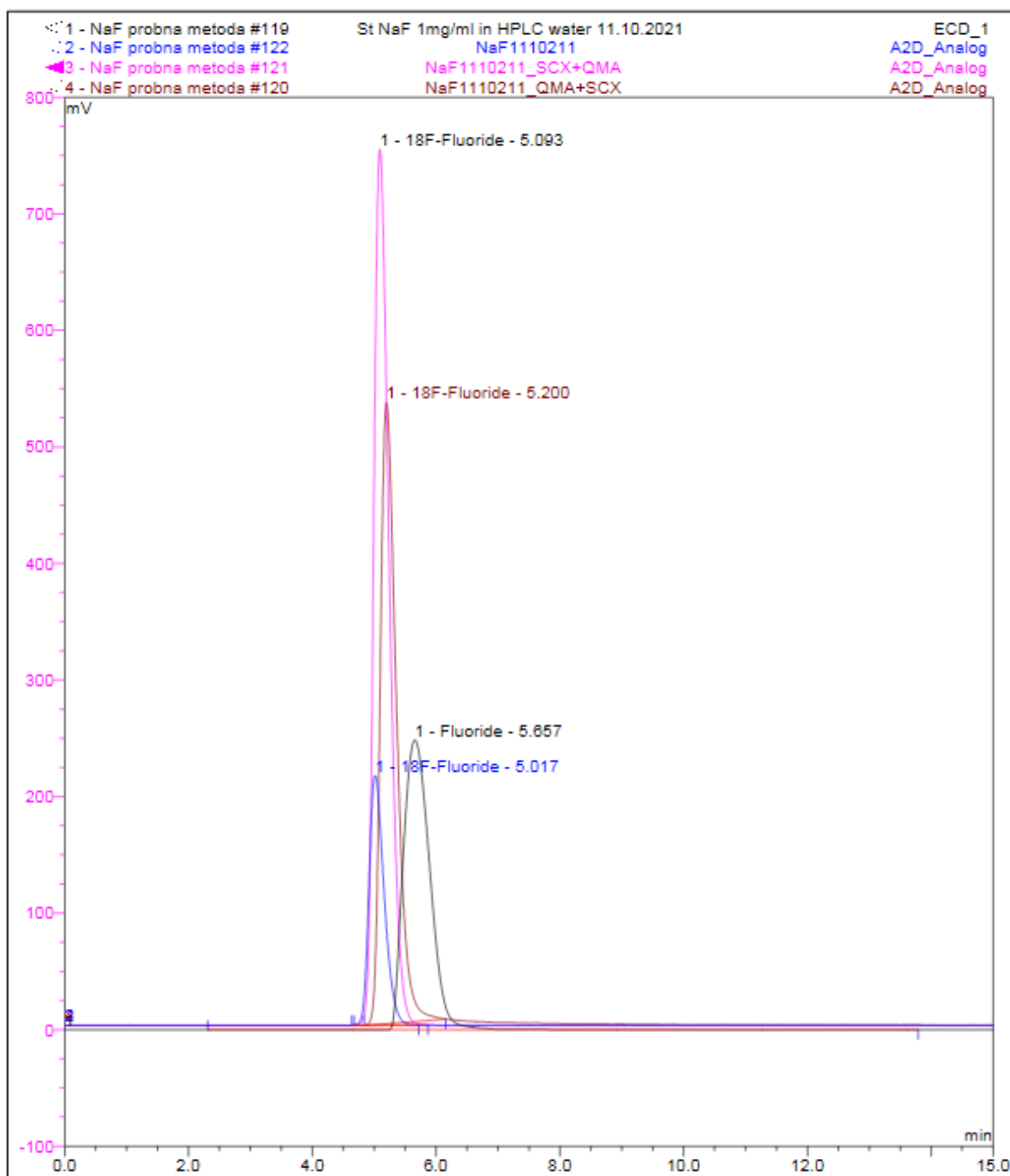
Слика 36. Радиохемиска чистота - преклопени хроматограми од NaF2809211 _ QMA + SCX, NaF2809211_SCX + QMA, NaF2809211

Figure 36. Radiochemical purity overlay chromatograms NaF2809211 _ QMA + SCX, NaF2809211_SCX + QMA, NaF2809211



Слика 37. Радиохемиска чистота - преклопени хроматограми од NaF0610211 _ QMA + SCX, NaF0610211_SCX + QMA, NaF0610211

Figure 37. Radiochemical purity overlay chromatograms NaF0610211 _ QMA + SCX, NaF0610211_SCX + QMA, NaF0610211



Слика 38. Радиохемиска чистота - преклопени хроматограми од NaF1110211 _ QMA + SCX, NaF1110211_SCX + QMA, NaF1110211

Figure 38. Radiochemical purity overlay chromatograms NaF1110211 _ QMA + SCX, NaF1110211_SCX + QMA, NaF1110211

- **Радионуклидна чистота**

Радионуклидната чистота беше одредена на финалните примероци од $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ и на примероците од отпадната збогатена вода. Во табела 20 се прикажани добиените резултати.

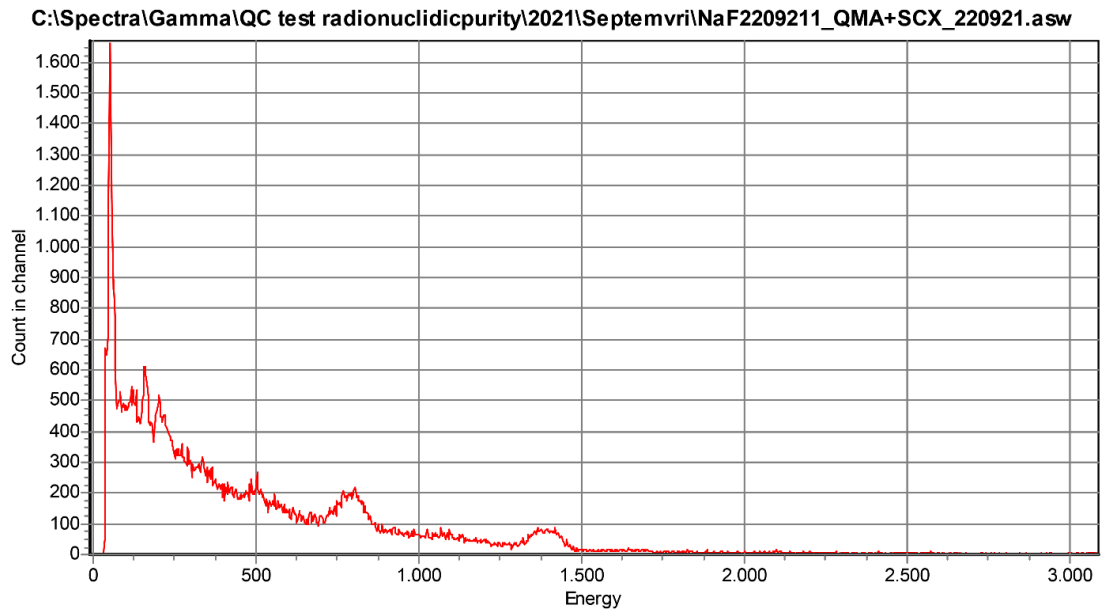
Табела 20. Радионуклидна чистота на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ примероци и отпадна вода

Table 20. Radionuclidic purity of $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ samples and recovery water

Проба / Experiment	Серија / Batch	Радионуклидна чистота / Radionuclidic purity (%)			
		Финални примероци		\bar{X}	SD
1. QMA + SCX	NaF2209211_QMA + SCX	7,27 x 10 ⁻⁰⁶		1,02 x 10 ⁻⁰⁵	2,33 x 10 ⁻⁰⁶
	NaF2809211_QMA + SCX	9,86 x 10 ⁻⁰⁶			
	NaF0610211_QMA + SCX	1,29 x 10 ⁻⁰⁵			
	NaF1110211_QMA + SCX	1,08 x 10 ⁻⁰⁵			
2. SCX + QMA	NaF2209211_SCX + QMA	9,67 x 10 ⁻⁰⁶		8,04 x 10 ⁻⁰⁶	3,72 x 10 ⁻⁰⁶
	NaF2809211_SCX + QMA	1,25 x 10 ⁻⁰⁵			
	NaF0610211_SCX + QMA	5,37 x 10 ⁻⁰⁶			
	NaF1110211_SCX + QMA	4,60 x 10 ⁻⁰⁶			
3. QMA	NaF2209211	2,38 x 10 ⁻⁰⁵		1,34 x 10 ⁻⁰⁵	7,63 x 10 ⁻⁰⁶
	NaF2809211	1,06 x 10 ⁻⁰⁵			
	NaF0610211	5,75 x 10 ⁻⁰⁶			
	NaF1110211	1,34 x 10 ⁻⁰⁵			
Примероци од отпадна вода					
1. QMA + SCX	RWNaF2209211_QMA + SCX	3,72 x 10 ⁻⁰³		1,35 x 10 ⁻⁰³	1,61 x 10 ⁻⁰³
	RWNaF2809211_QMA + SCX	3,32 x 10 ⁻⁰⁴			
	RWNaF0610211_QMA + SCX	3,32 x 10 ⁻⁰⁴			
	RWNaF1110211_QMA + SCX	1,01 x 10 ⁻⁰³			
2. SCX + QMA	RWNaF2209211_SCX + QMA	1,37 x 10 ⁻⁰³		8,17 x 10 ⁻⁰⁴	8,02 x 10 ⁻⁰⁴
	RWNaF2809211_SCX + QMA	1,31 x 10 ⁻⁰⁴			
	RWNaF0610211_SCX + QMA	1,28 x 10 ⁻⁰⁴			
	RWNaF1110211_SCX + QMA	1,64 x 10 ⁻⁰³			
3. QMA	RWNaF2209211	8,33 x 10 ⁻⁰⁴		9,19 x 10 ⁻⁰⁴	8,13 x 10 ⁻⁰⁴
	RWNaF2809211	4,62 x 10 ⁻⁰⁴			
	RWNaF0610211	2,92 x 10 ⁻⁰⁴			
	RWNaF1110211	2,09 x 10 ⁻⁰³			

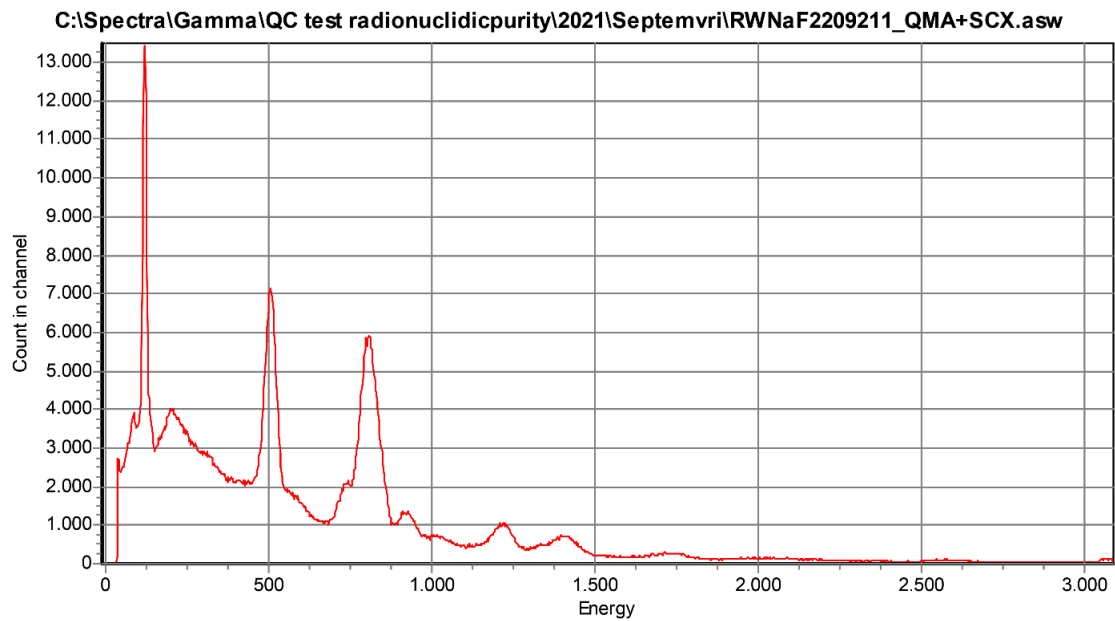
\bar{X} - средна вредност, SD - стандардна девијација

На сликите 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61 се прикажани спектрите од радионуклидните онечистувања на финалните примероци на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ и на сликите 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60 и 62 се прикажани спектрите од радионуклидните онечистувања на отпадната вода.



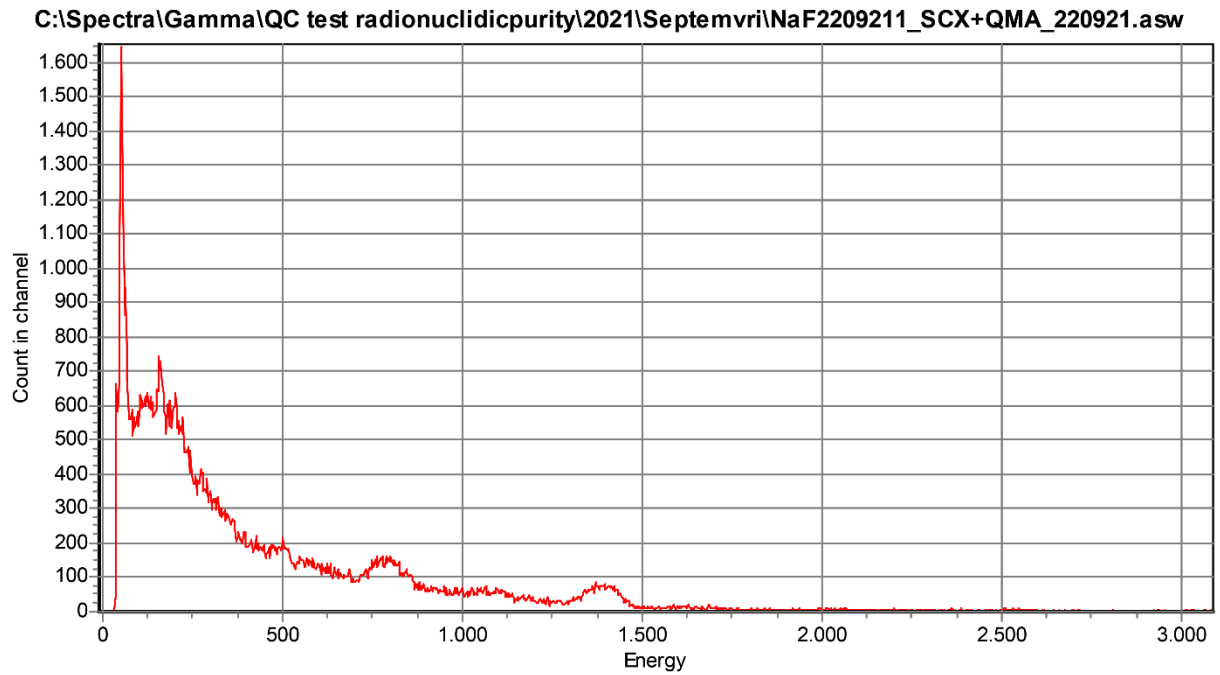
Слика 39. Гама спектар на NaF2209211_QMA + SCX (радионуклидна чистота)

Figure 39. Gamma spectrum of NaF2209211_QMA + SCX (radionuclidic purity)



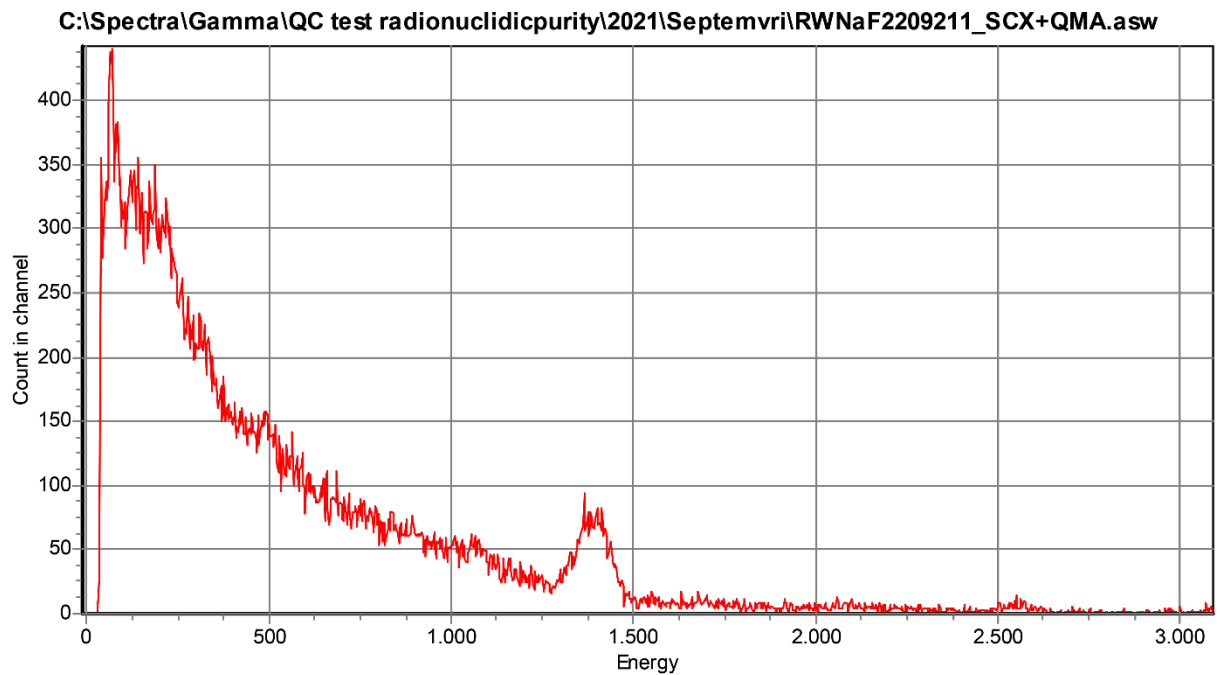
Слика 40. Гама спектар на отпадна вода RWNaF2209211_QMA + SCX (радионуклидна чистота)

Figure 40. Gamma spectrum of recovery water RWNaF2209211_QMA + SCX (radionuclidic purity)



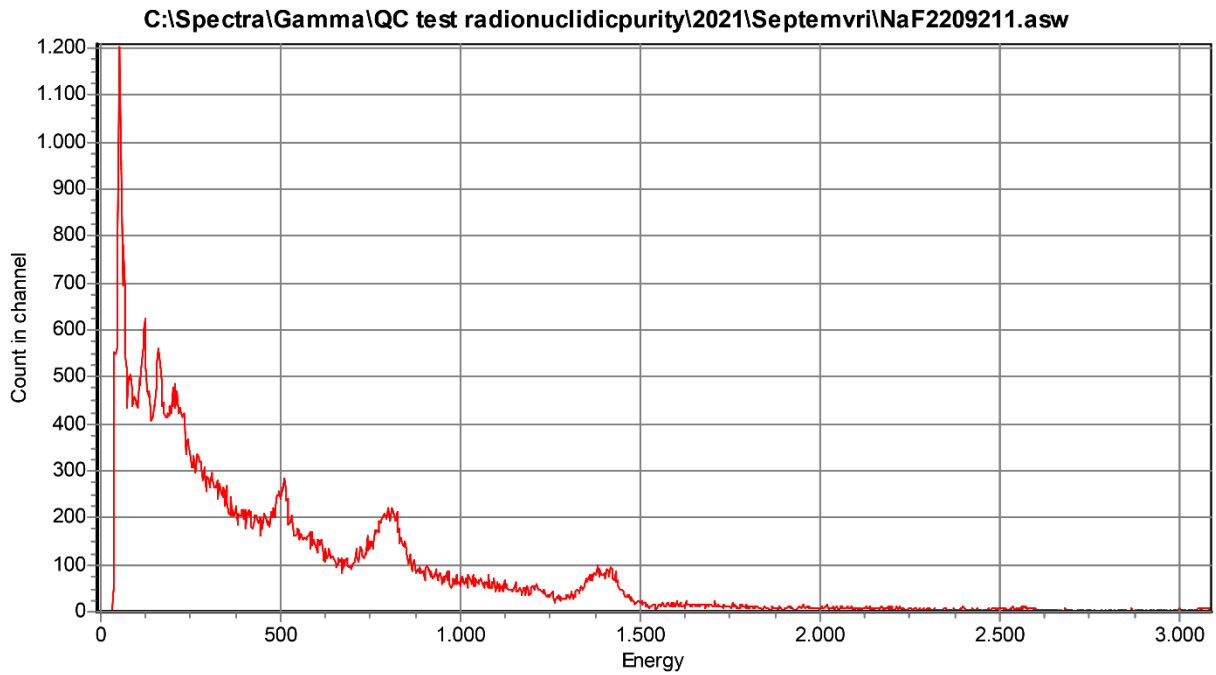
Слика 41. Гама спектар на NaF2209211_SCX + QMA (радионуклидна чистота)

Figure 41. Gamma spectrum of NaF2209211_SCX + QMA (radionuclidic purity)



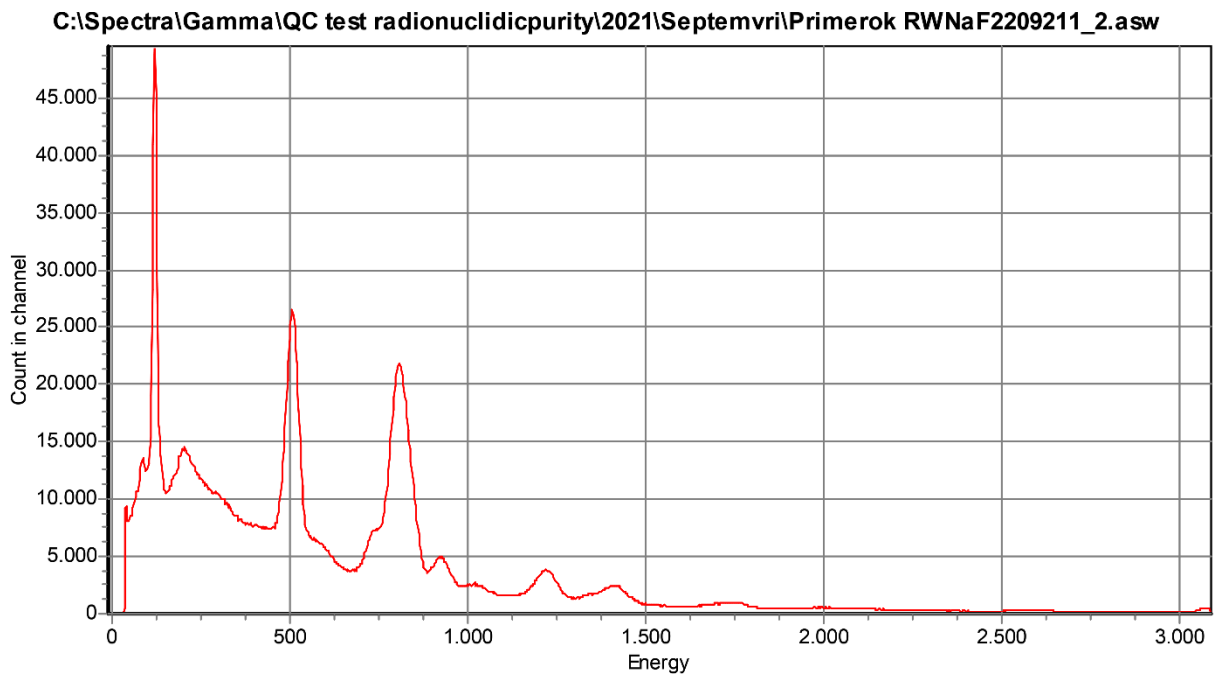
Слика 42. Гама спектар на отпадна вода RWNaF2209211_SCX + QMA (радионуклидна чистота)

Figure 42. Gamma spectrum of recovery water RWNaF2209211_SCX + QMA (radionuclidic purity)



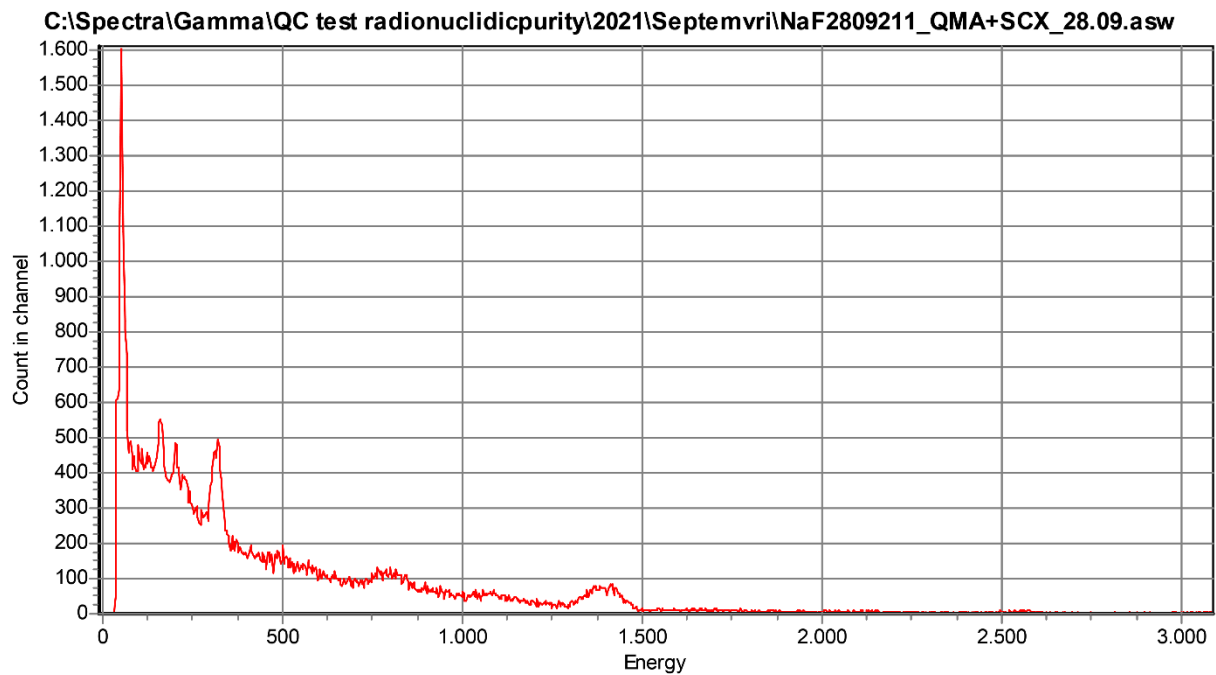
Слика 43. Гама спектар на NaF2209211 (радионуклидна чистота)

Figure 43. Gamma spectrum of NaF2209211 (radionuclidic purity)



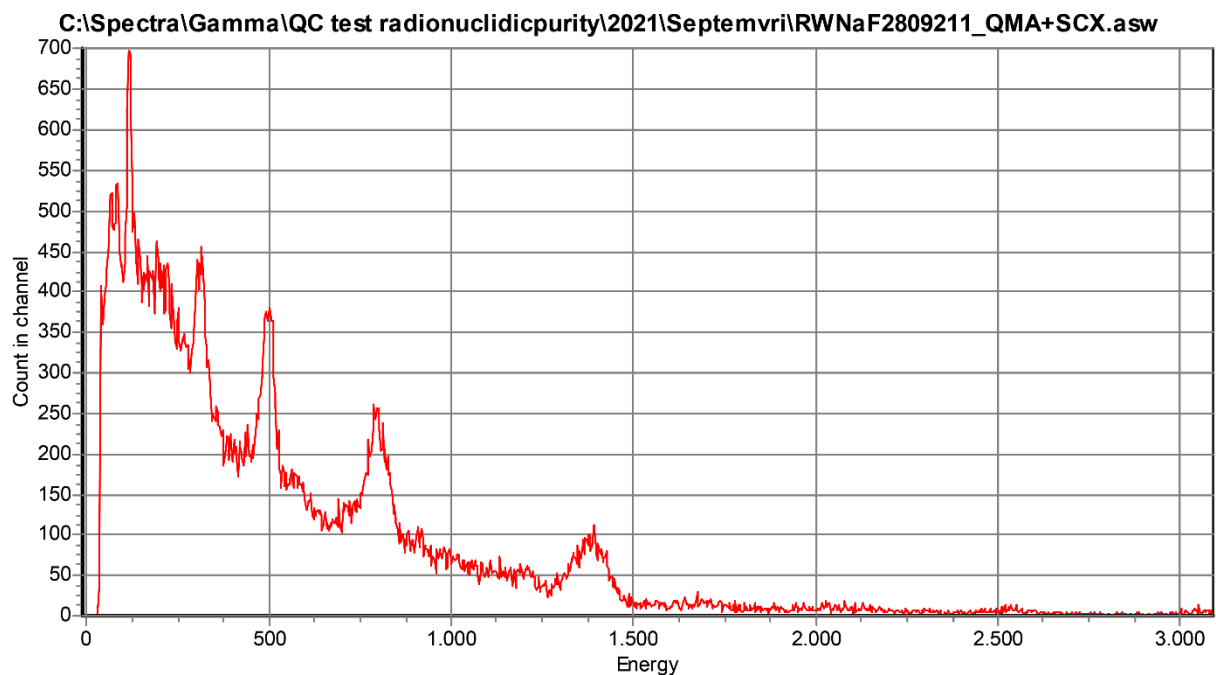
Слика 44. Гама спектар на отпадна вода RWNaF2209211 (радионуклидна чистота)

Figure 44. Gamma spectrum of recovery water RWNaF2209211 (radionuclidic purity)



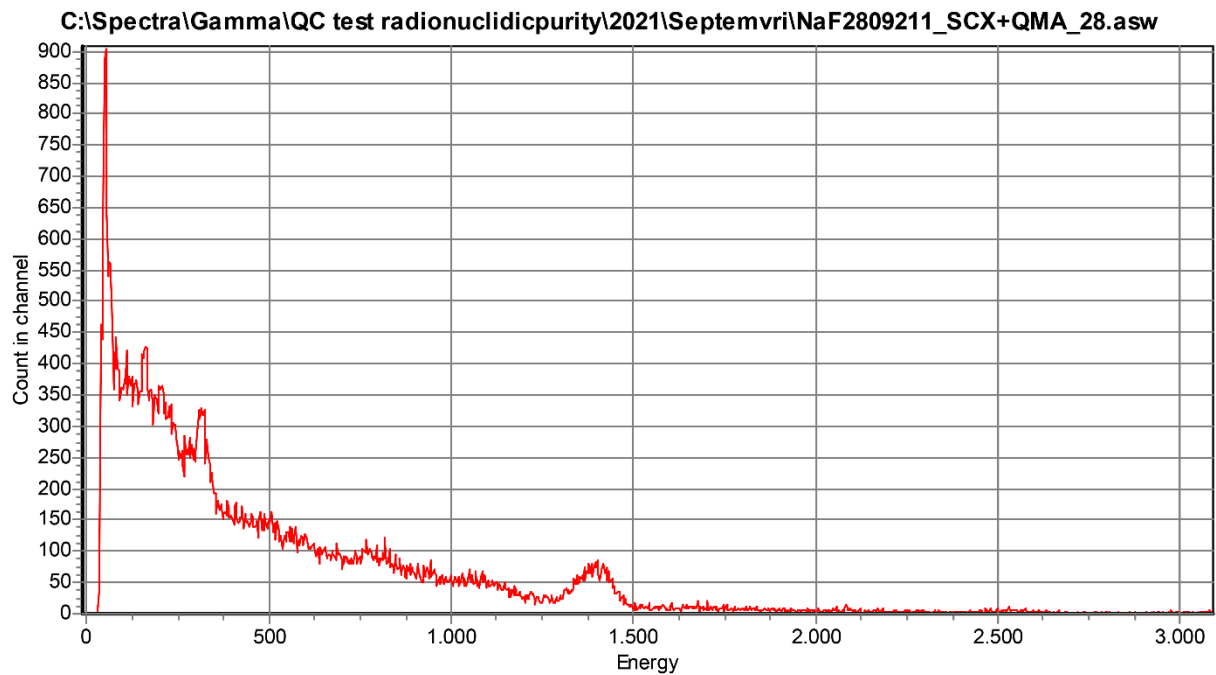
Слика 45. Гама спектар на NaF2809211_QMA + SCX (радионуклидна чистота)

Figure 45 .Gamma spectrum of NaF2809211_QMA + SCX (radionuclidic purity)



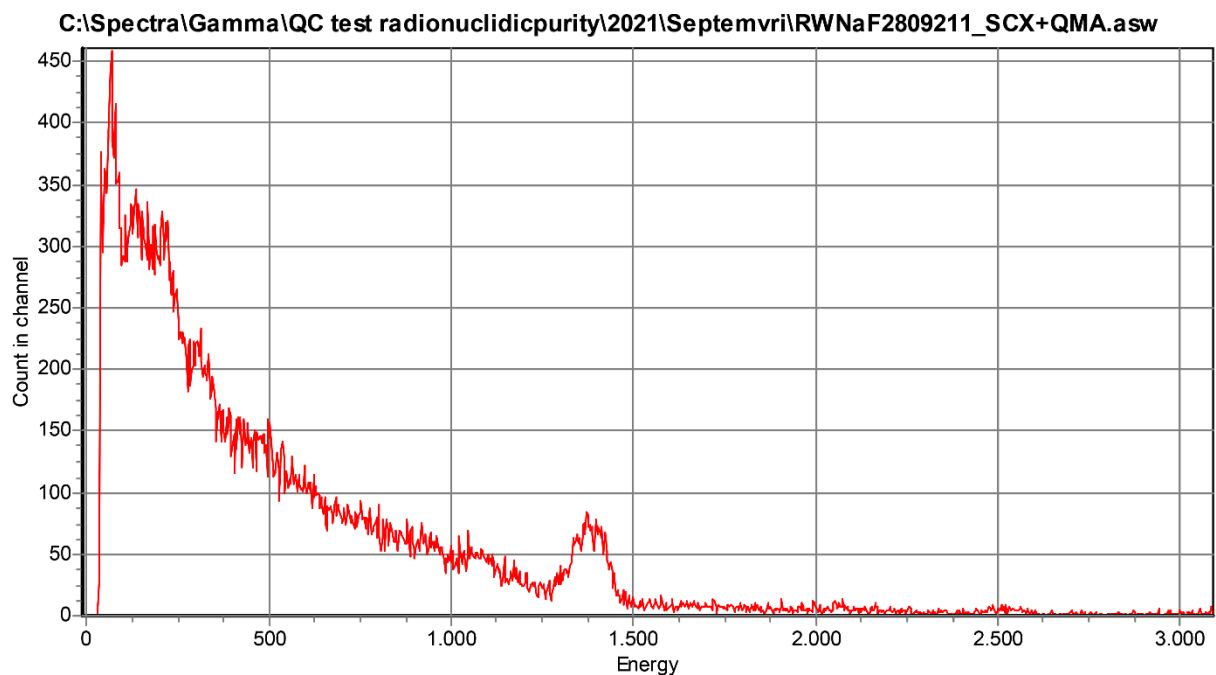
Слика 46. Гама спектар на отпадна вода RWNaF2809211_QMA + SCX (радионуклидна чистота)

Figure 46. Gamma spectrum of recovery water RWNaF2809211_QMA + SCX (radionuclidic purity)



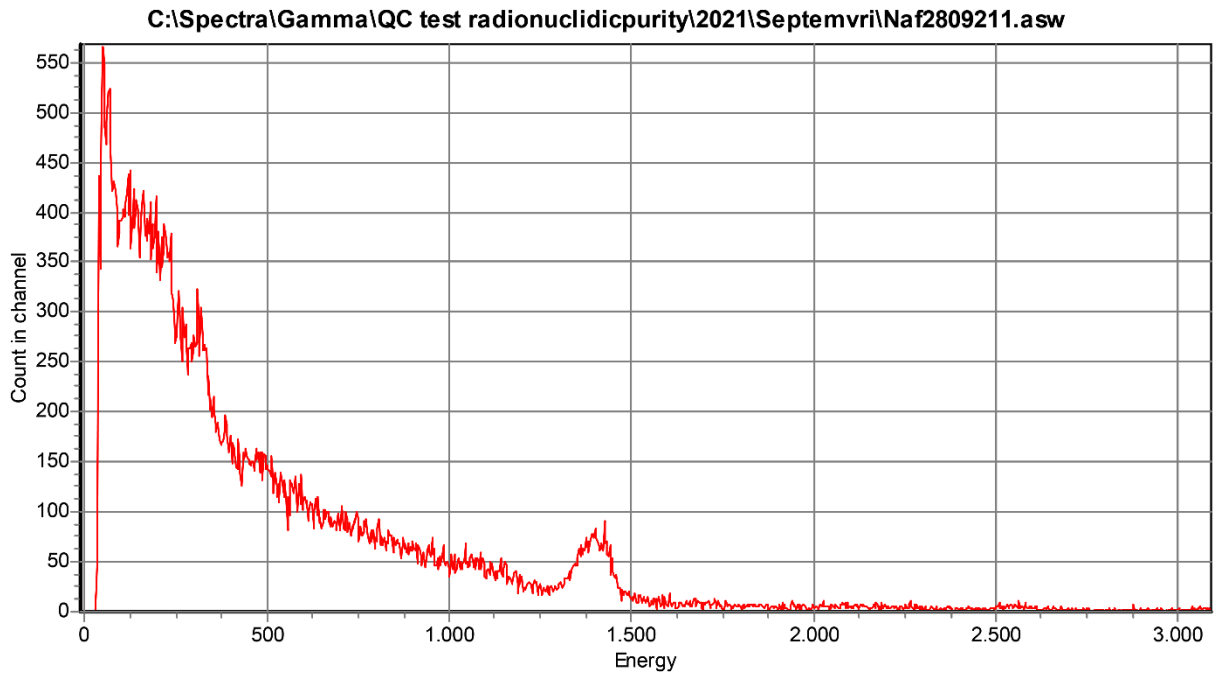
Слика 47. Гама спектар на NaF2809211_SCX + QMA (радионуклидна чистота)

Figure 47. Gamma spectrum of NaF2809211_SCX + QMA (radionuclidic purity)



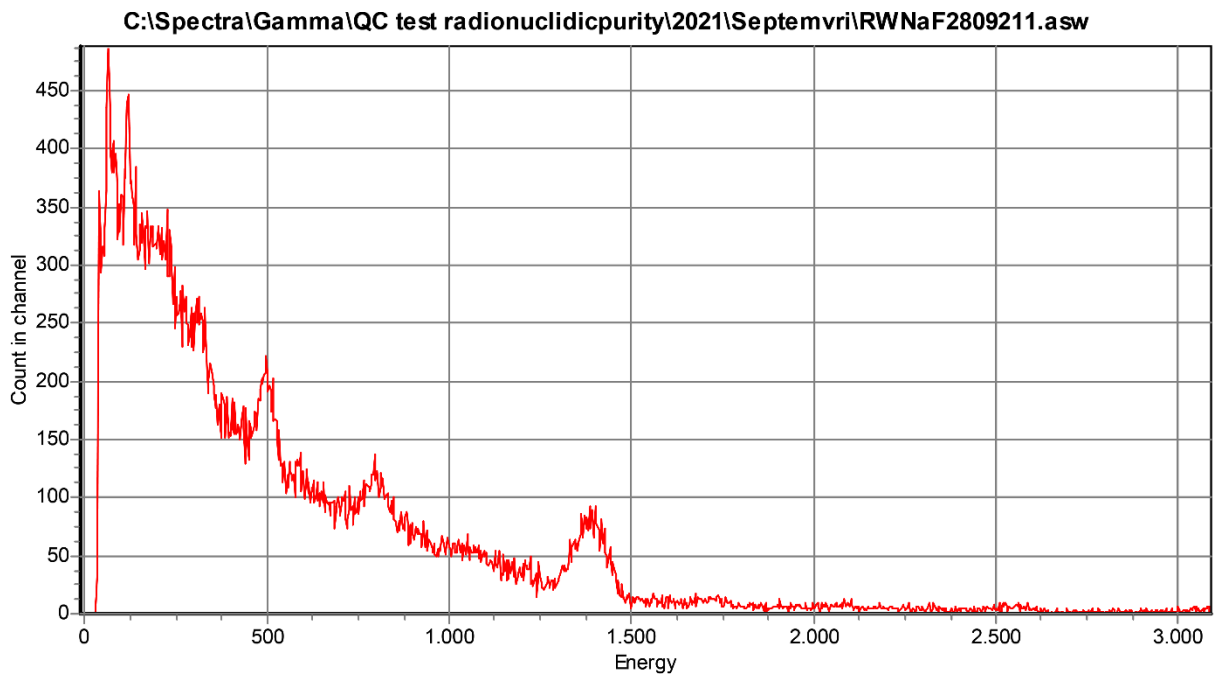
Слика 48. Гама спектар на отпадна вода RWNaF2809211_SCX + QMA (радионуклидна чистота)

Figure 48. Gamma spectrum of recovery water RWNaF2809211_SCX + QMA (radionuclidic purity)



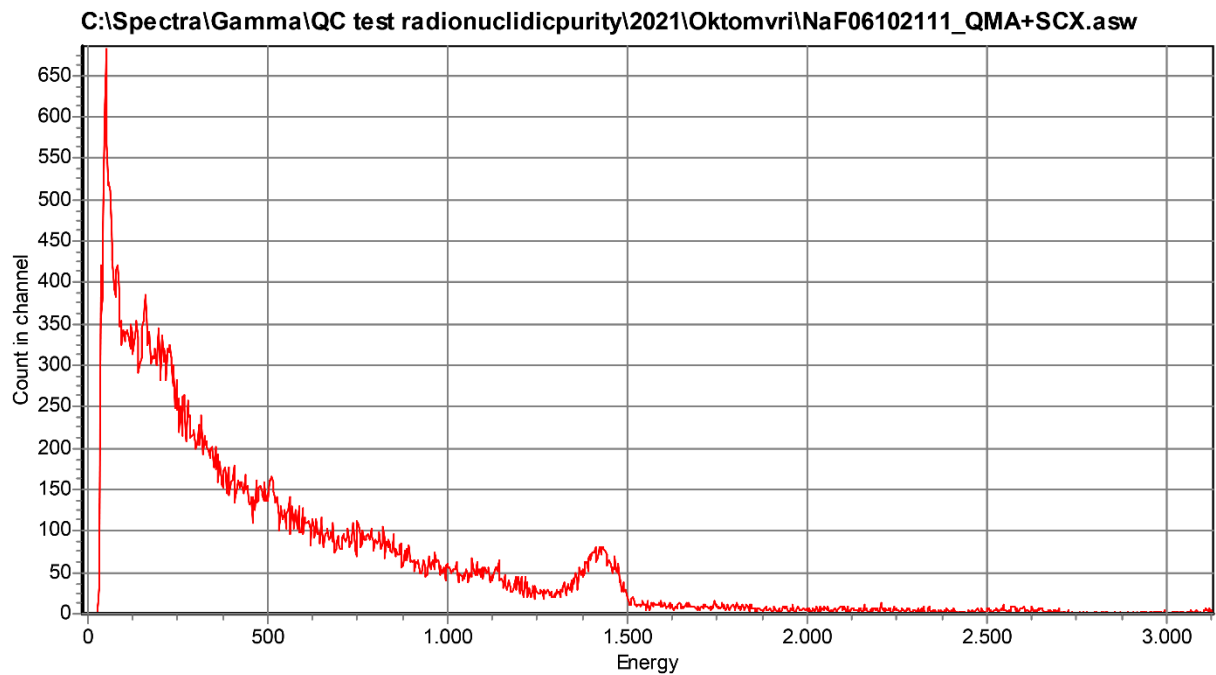
Слика 49. Гама спектар на NaF2809211 (радионуклидна чистота)

Figure 49. Gamma spectrum of NaF280921 (radionuclidic purity)



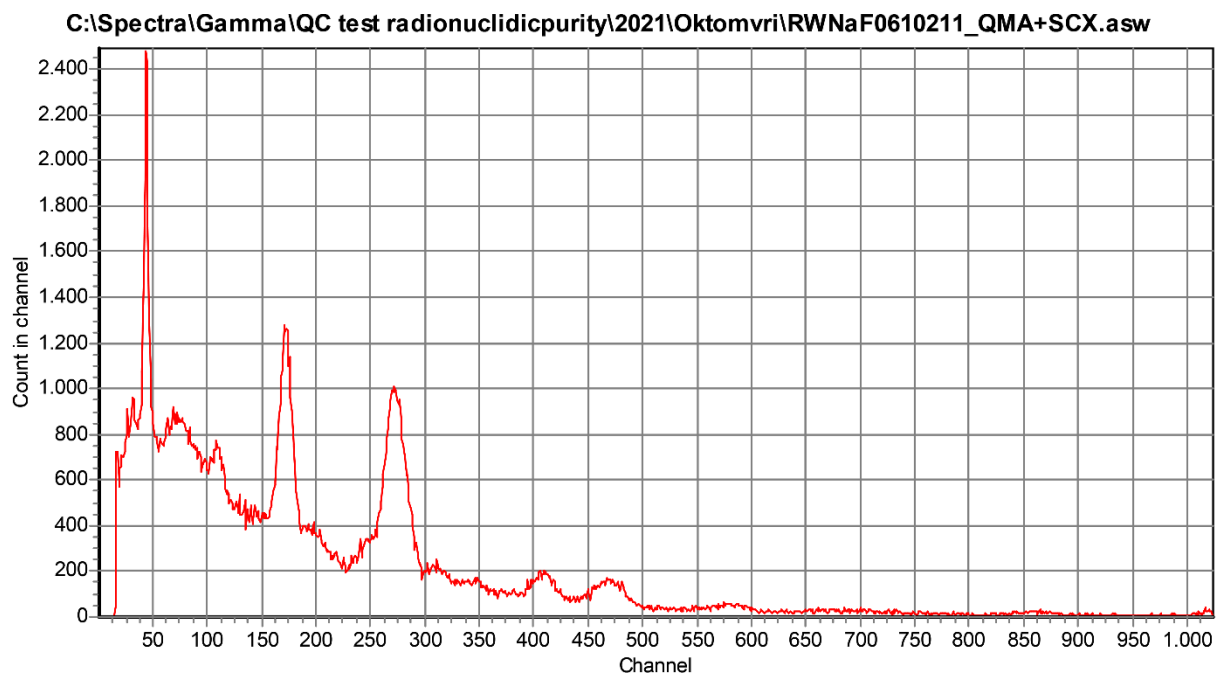
Слика 50. Гама спектар на отпадна вода RWNaF2809211 (радионуклидна чистота)

Figure 50. Gamma spectrum of recovery water RWNaF2809211 (radionuclidic purity)



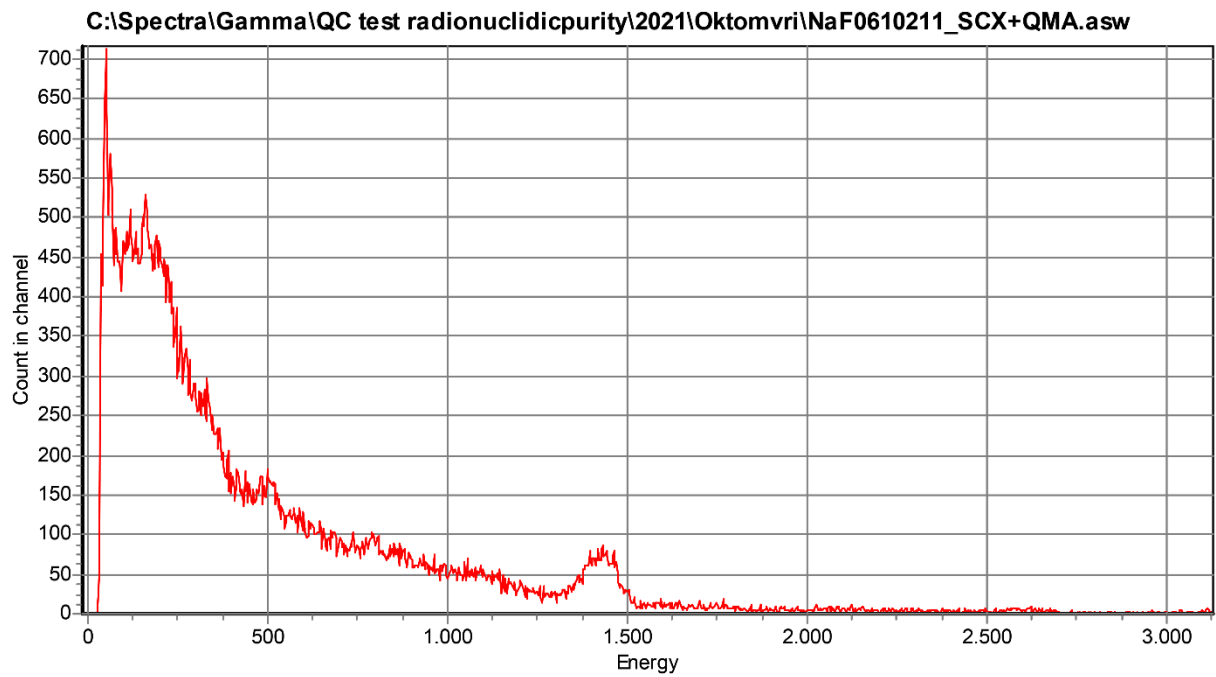
Слика 51. Гама спектар на NaF0610211_QMA + SCX (радионуклидна чистота)

Figure 51. Gamma spectrum of NaF0610211_QMA + SCX (radionuclidic purity)



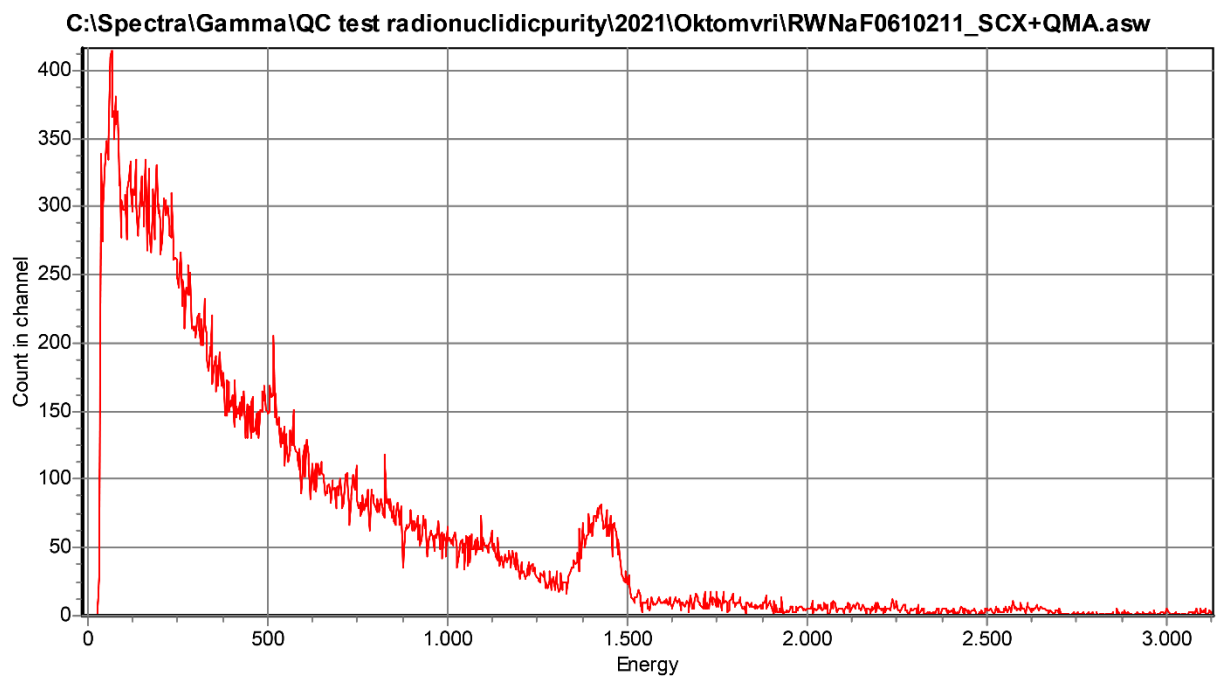
Слика 52. Гама спектар на отпадна вода RWNaF0610211_QMA + SCX (радионуклидна чистота)

Figure 52. Gamma spectrum of recovery water RWNaF0610211_QMA + SCX (radionuclidic purity)



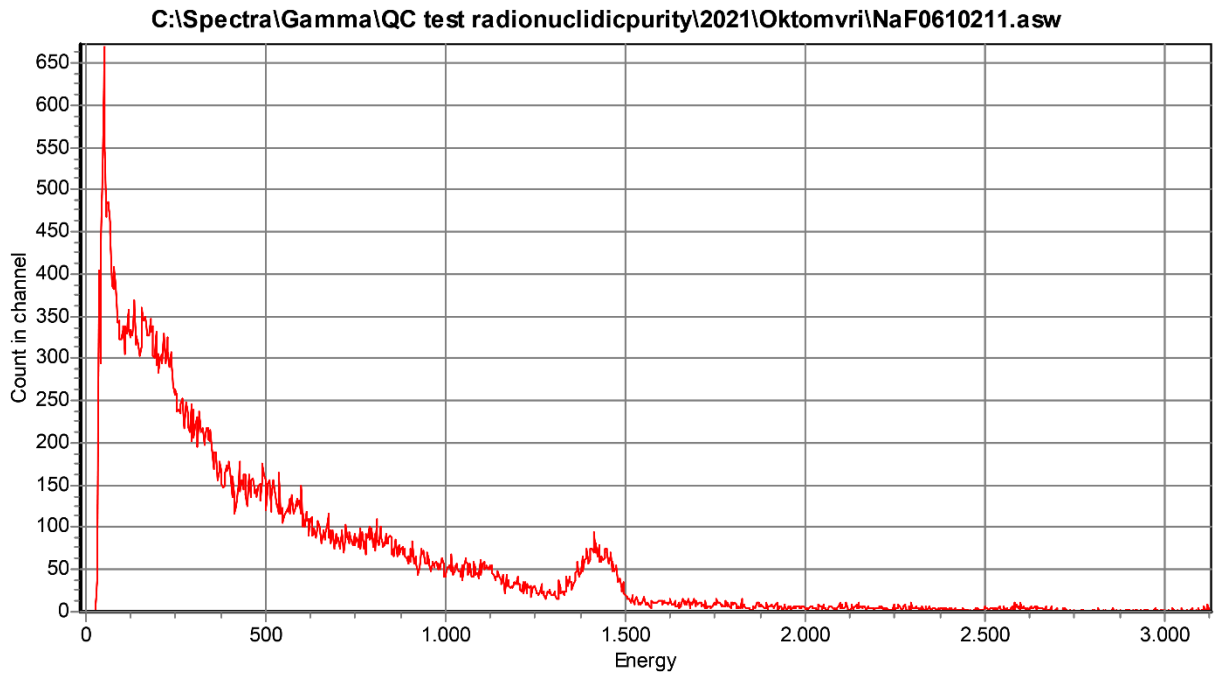
Слика 53. Гама спектар на NaF0610211_SCX + QMA (радионуклидна чистота)

Figure 53. Gamma spectrum of NaF0610211_SCX + QMA (radionuclidic purity)



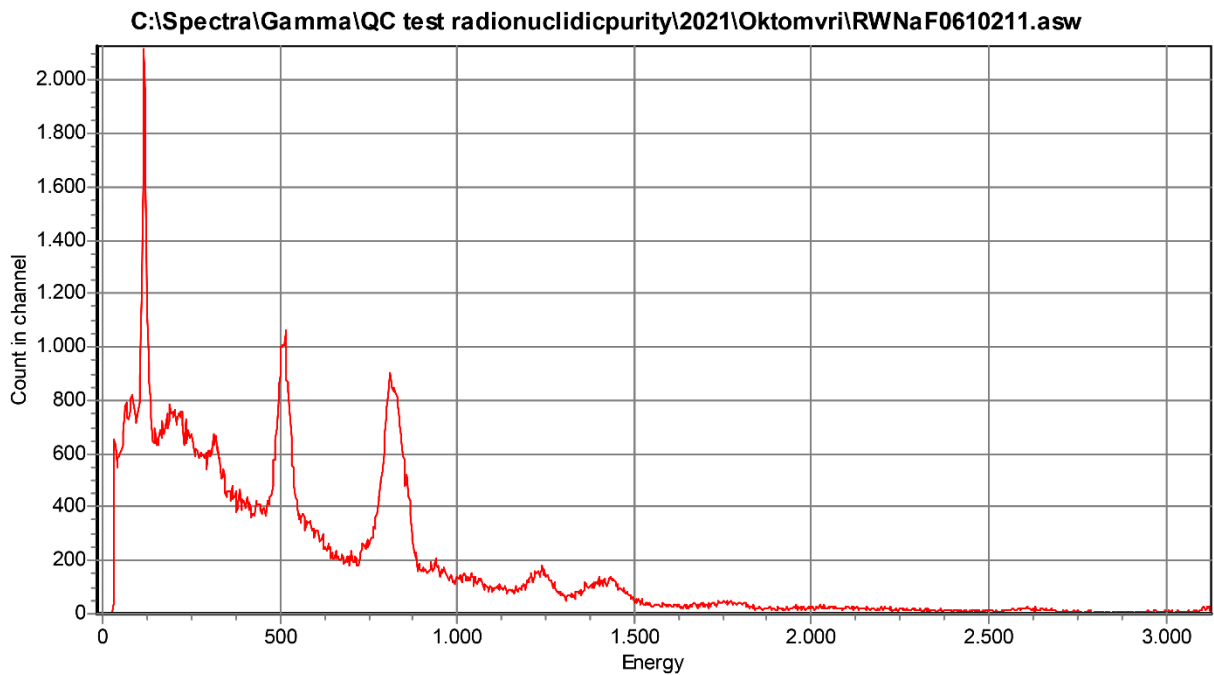
Слика 54. Гама спектар на отпадна вода RWNaF0610211_SCX + QMA (радионуклидна чистота)

Figure 54. Gamma spectrum of recovery water RWNaF2809211_SCX + QMA (radionuclidic purity)



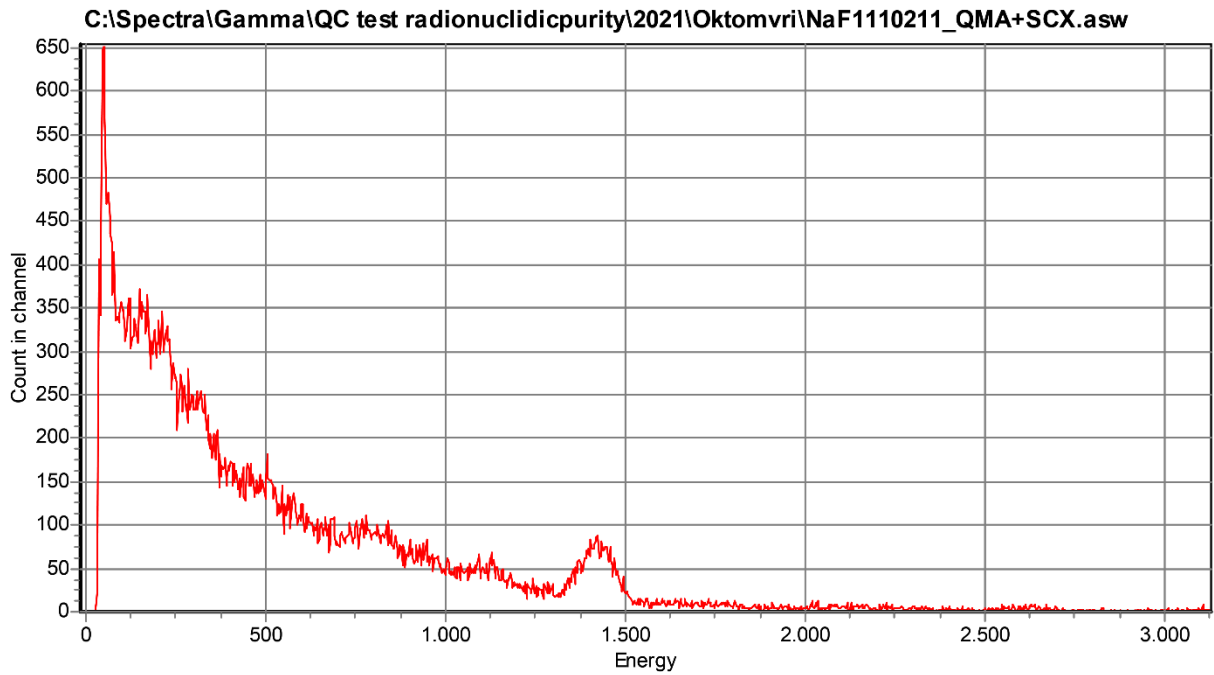
Слика 55. Гама спектар на NaF0610211 (радионуклидна чистота)

Figure 55. Gamma spectrum of NaF0610211 (radionuclidic purity)



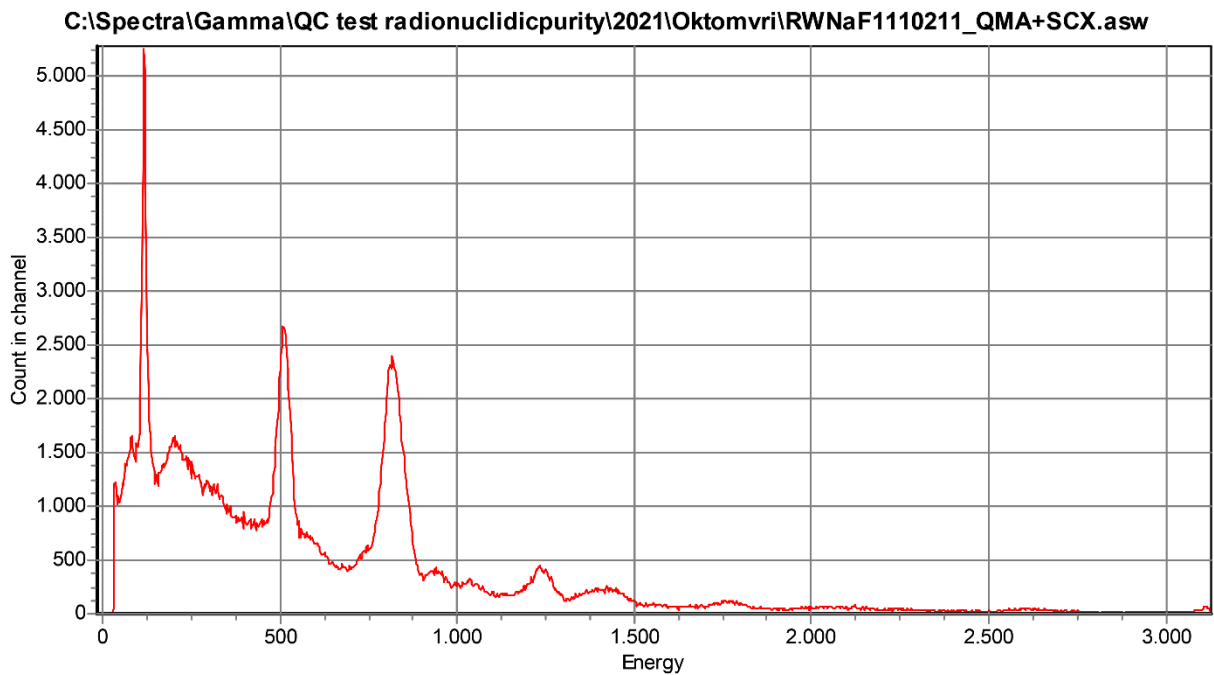
Слика 56. Гама спектар на отпадна вода RWNaF0610211 (радионуклидна чистота)

Figure 56. Gamma spectrum of recovery water RWNaF0610211 (radionuclidic purity)



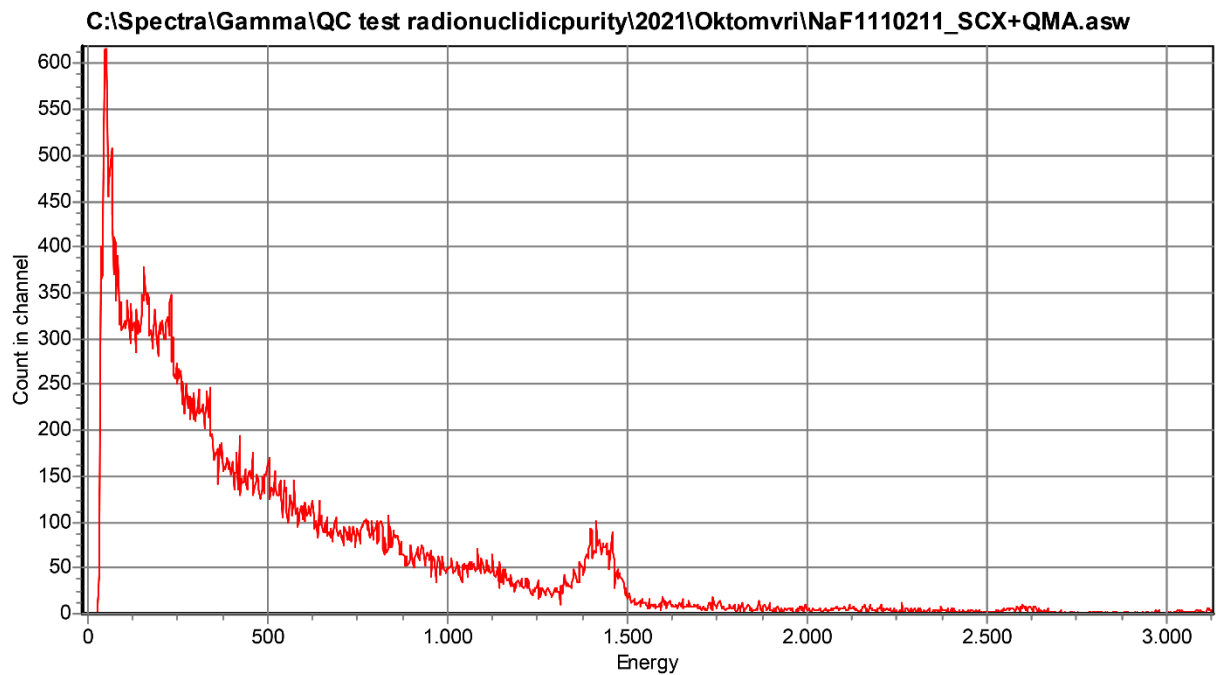
Слика 57. Гама спектар на NaF1110211_QMA + SCX (радионуклидна чистота)

Figure 57. Gamma spectrum of NaF1110211_QMA + SCX (radionuclidic purity)



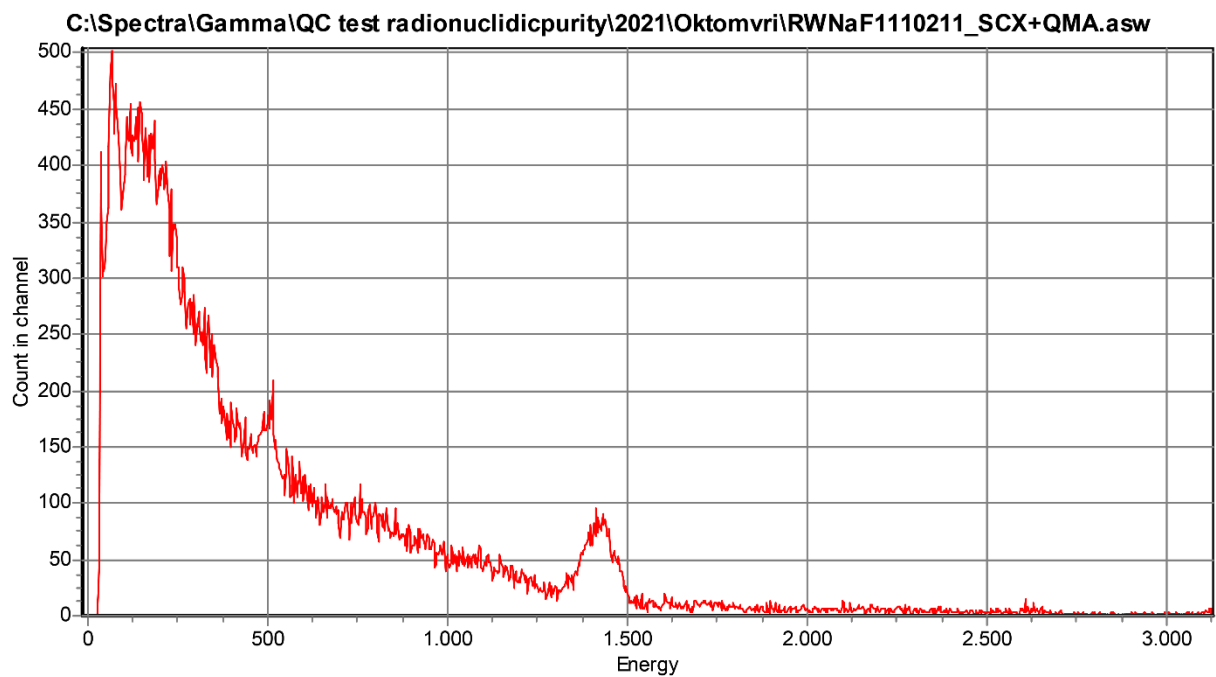
Слика 58. Гама спектар на отпадна вода NaF1110211_QMA + SCX (радионуклидна чистота)

Figure 58. Gamma spectrum of recovery water NaF1110211_QMA + SCX (radionuclidic purity)



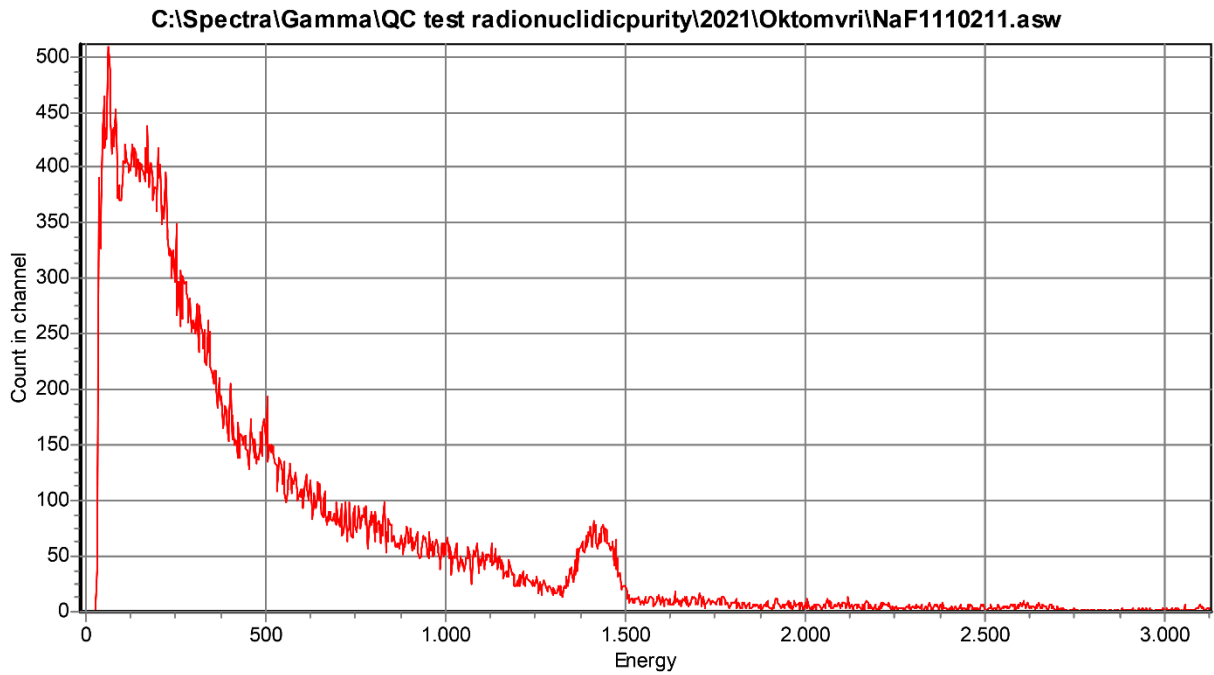
Слика 59. Гама спектар на NaF1110211_SCX + QMA (радионуклидна чистота)

Figure 59. Gamma spectrum of NaF1110211_SCX + QMA (radionuclidic purity)



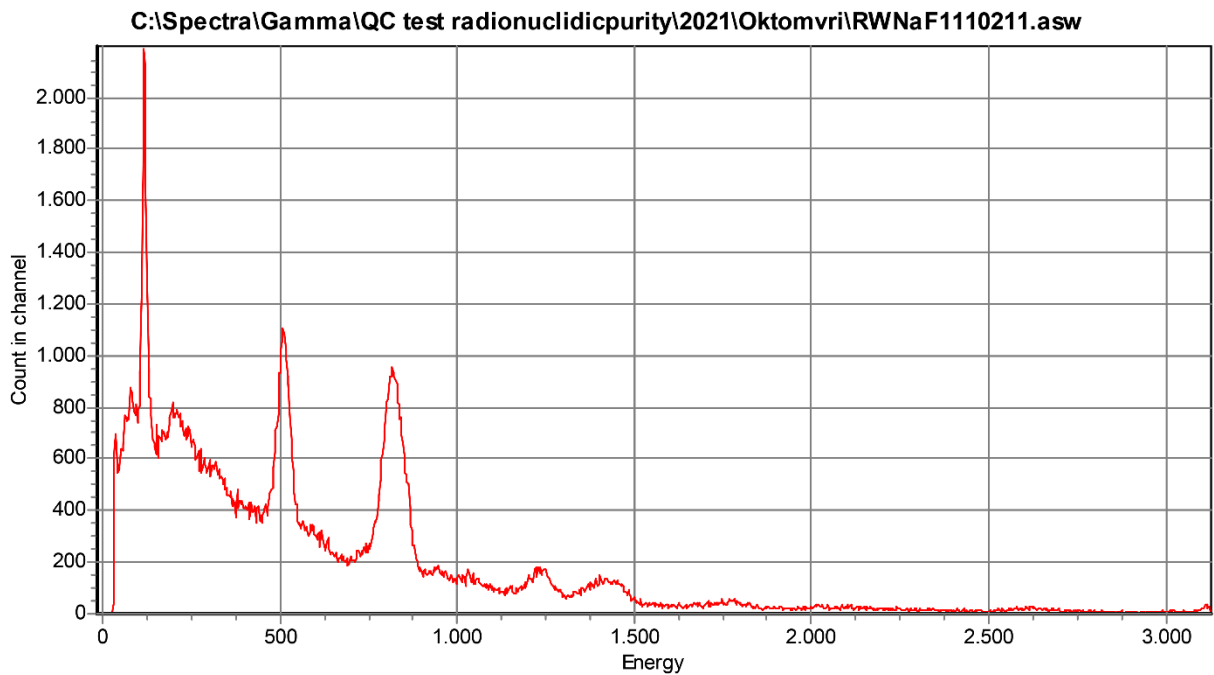
Слика 60. Гама спектар на отпадна вода RWNaF1110211_SCX + QMA (радионуклидна чистота)

Figure 60. Gamma spectrum of recovery water RWNaF1110211_SCX + QMA (radionuclidic purity)



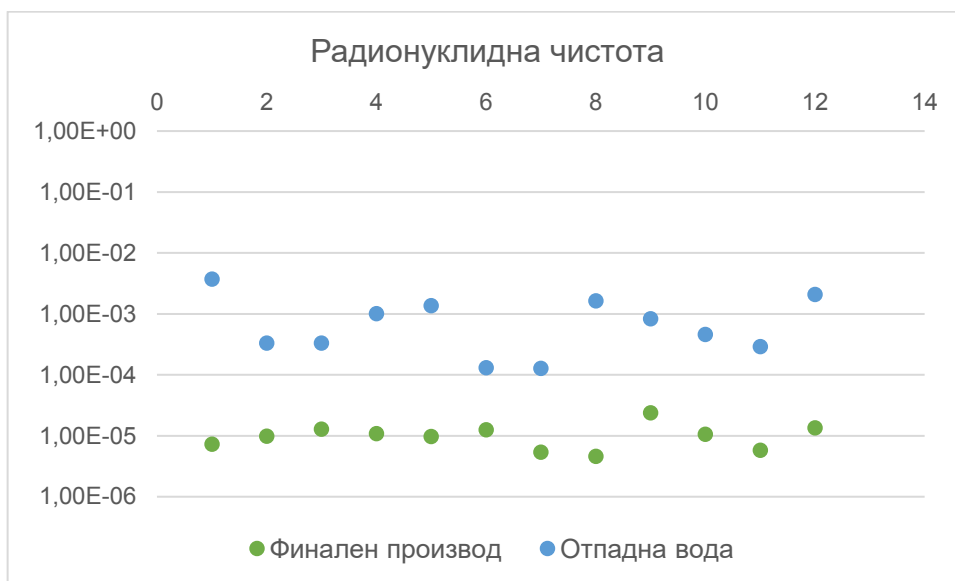
Слика 61. Гама спектар на NaF1110211 (радионуклидна чистота)

Figure 61. Gamma spectrum of NaF1110211 (radionuclidic purity)



Слика 62. Гама спектар на отпадна вода RWNaF1110211 (радионуклидна чистота)

Figure 62. Gamma spectrum of recovery water RWNaF1110211 (radionuclidic purity)



Слика 63. Радионуклидна чистота на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ примероци и примероци од отпадна вода
 Figure 63. Radionuclidic purity of $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ samples and recovery water samples

5.4. Волумен на физиолошки раствор за елуција

За дефинирање на волуменот за ефикасна елуција на задржаниот радиоактивен флуорид беа изведени мануелни и полуавтоматски синтеси со волумен од 5 mL физиолошки раствор за прва елуција и дополнително со уште 5 mL физиолошки раствор за втора елуција. Во табелите 21 и 22 е прикажан процентот на задржана радиоактивност на QMA кертриџот по елуција со 5 mL и со 10 mL физиолошки раствор за полуавтоматските и мануелните производства на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$.

Табела 21. Задржана радиоактивност на QMA кертриџ со различен волумен на елуција – полуавтоматски производства

Table 21. Retained radioactivity of QMA cartridge with different volume of elution – semi-automatic productions

Серија / Batch	Задржана радиоактивност на QMA кертриџ / Retained radioactivity of QMA cartridge (%)	
	Елуција / Elution	
	5 mL 0,9 % NaCl	10 mL 0,9 % NaCl
NaF2108201	0,282	
NaF2009201	0,112	/
NaF1207211	0,588	
NaF1507211	0,112	0,013
NaF2709211	0,72	0,61
NaF2909211	0,243	0,045
NaF0410211	0,184	0,052
NaF1210211	0,245	0,072

Табела 22. Задржана радиоактивност на QMA кертриџ со различен волумен на елуција – мануелни производства

Table 22. Retained radioactivity of QMA cartridge with different volume of elution - manual productions

Серија / Batch	Задржана радиоактивност на QMA кертриџ / Retained radioactivity of QMA cartridge (%)	
	Елуција / Elution	
	5 mL 0,9 % NaCl	10 mL 0,9 % NaCl
NaF2209211_QMA + SCX	0,447	0,158
NaF2209211_SCX + QMA	0,792	0,348
NaF2209211	0,542	0,415
NaF2809211_QMA + SCX	0,270	0,138
NaF2809211_SCX + QMA	0,592	0,178
NaF2809211	0,315	0,134
NaF0610211_QMA + SCX	0,263	0,083
NaF0610211_SCX + QMA	1,083	0,407
NaF0610211	0,353	0,125
NaF1110211_QMA + SCX	0,237	0,169
NaF1110211_SCX + QMA	1,661	0,679
NaF1110211	0,394	0,188

5.5. Валидација на постапката за чистење

За производство на стерилни парентерални интравенски препарати спроведувањето на валидација на постапката за чистење е од исклучителна важност за да се елиминира микробиолошка контаминација од опремата што се користи во текот на производството. Во табела 23 и на слика 64 се прикажани резултатите од примероците од капиларата за испорака на [¹⁸F]F⁻ радиоизотоп од циклотрон до апарат за делење на дози Clіo. Примероците беа земени со метод на промивање.

Табела 23. Примероци од капиларата за испорака на [¹⁸F]F⁻ радиоизотоп

Table 23. Rinse sample from [¹⁸F]F⁻ radioisotope transfer capillary

Примероци со промивање / Rinse samples		
Серија / Batch	Бактериски ендотоксини / Bacterial endotoxins	Стерилност / Sterility
CVNaF0408211	<5 IU/mL	Сите примероци се стерилни
CVNaF0508211	<5 IU/mL	
CVNaF1008211	< 5 IU/mL	

а	б	в
<pre> ***** ENDOSAFE Test Record ***** V712F 3/24/2015 DateTime: 08/04/21 @ 11:12:29 Device: B714 OperatorID: FILIPJ Cartridge: Endotoxin Temperature: .. Start: 37.0C End: 37.0C Method: KX-122 Cartridge Lot#: 6604162 Cartridge Cal Code: 513734147925 Range: 5-0.05 Range Time: Sec: 137-741 Onset Time: >741 250 >741 244 Slope: -0.367 Intercept: +2.393 Dilution: 100 Sample Lot: CVNAF-0408211-EN Sample ID: 10FNAF Sample Run Time CV: 0.0X Pass Spike Value: 0.940 EU/mL Spike Run Time CV: 1.1X Pass Spike Recovery: 95X Pass Test Suitability: Pass Sample Value: <5.00 EU/mL </pre>	<pre> ***** ENDOSAFE Test Record ***** V712F 3/24/2015 DateTime: 08/05/21 @ 12:05:07 Device: B714 OperatorID: FILIPJ Cartridge: Endotoxin Temperature: .. Start: 37.0C End: 37.0C Method: KX-122 Cartridge Lot#: 6604162 Cartridge Cal Code: 513734147925 Range: 5-0.05 Range Time: Sec: 137-741 Onset Time: >741 212 >741 244 Slope: -0.367 Intercept: +2.393 Dilution: 100 Sample Lot: CVNAF-0508211-EN Sample ID: 10FNAF Sample Run Time CV: 0.0X Pass Spike Value: 1.18 EU/mL Spike Run Time CV: 10.5X Pass Spike Recovery: 119X Pass Test Suitability: Pass Sample Value: <5.00 EU/mL </pre>	<pre> ***** ENDOSAFE Test Record ***** V712F 3/24/2015 DateTime: 08/10/21 @ 05:43:35 Device: B714 OperatorID: FILIPJ Cartridge: Endotoxin Temperature: .. Start: 37.0C End: 37.0C Method: KX-122 Cartridge Lot#: 6604162 Cartridge Cal Code: 513734147925 Range: 5-0.05 Range Time: Sec: 137-741 Onset Time: >741 190 >741 234 Slope: -0.367 Intercept: +2.393 Dilution: 1 Sample Lot: CVNAF-1008211-EN Sample ID: 10FNAF Sample Run Time CV: 0.0X Pass Spike Value: 1.45 EU/mL Spike Run Time CV: 15.3X Pass Spike Recovery: 144X Pass Test Suitability: Pass Sample Value: <0.050 EU/mL </pre>

Слика 64. Примероци со промивање - бактериски ендотоксини а) примерок NaF_0408211_EN, б) примерок NaF_0508211_EN, в) примерок NaF_1008211_EN

Figure 64. Rinse sample - bacterial endotoxins а) sample NaF_0408211_EN б) sample NaF_0508211_EN, в) sample NaF_1008211_EN

Во табела 24 се прикажани резултатите од микробиолошкото тестирање на површината на апаратот за делење на дози со земање на брисови од претходно утврдените позиции.

Табела 24. Примероци од површина - брис на апарат за делење на дози Clio
Table 24. Surface samples - swabs Clio dispensing module

Брисови / Swabs				
Позиција / Position X	1	2	3	4
Серија / Batch	CFU/брис / CFU/swab			
CVNaF0408211_BRX	0	0	0	0
CVNaF0508211_BRX	0	0	0	0
CVNaF0608211_BRX	0	0	0	0

5.6. Асептична валидација на процес на производство на [¹⁸F]NaF

Симулацијата на рутинскиот асептичен процес на синтеза и делење на дози во оловен кабинет класа А беше изведена со медиум кој поддржува раст на микроорганизми како генерално прифатен метод за валидација на асептично работење и со тестот за биолошко оптоварување (Krämer et al., 2016 и Geersing et al., 2019).

Тестираните примероци за биолошко оптоварување беа без микробиолошки раст, односно беа стерилни. Резултатот од примерокот тестиран за бактериски ендотоксини беше <5 IU/mL, што е во критериумот на прифатливост. Резултатите од првата серија на биолошко оптоварување (bioburden) се прикажани во табела 25. Резултати беа потврдени и во следните две серии на bioburden. Резултатите од втората и третата серија на bioburden се прикажани во табела 26 и 27.

Табела 25. Тест за биолошко оптоварување - прва серија AVNaF1208211_BB

Table 25. Bioburden testing - first batch AVNaF1208211_BB

Шифра на примерок / Sample code	Резултати / Results
1 AVNaF1208211_BB1	Стерилен / Sterile
2 AVNaF1208211_BB2	Стерилен / Sterile
3 AVNaF1208211_BB3	Стерилен / Sterile
4 AVNaF1208211_BB4	Стерилен / Sterile
5 AVNaF1208211_BB5	Стерилен / Sterile
6 AVNaF1208211_BB6	Стерилен / Sterile
7 AVNaF1208211_BB7	Стерилен / Sterile
8 AVNaF1208211_BB8	Стерилен / Sterile
9 AVNaF1208211_BB9	Стерилен / Sterile
10 AVNaF1208211_BB10	Стерилен / Sterile
11 AVNaF1208211_EN	<5 IU/mL

Табела 26. Тест за биолошко оптоварување – втора серија AVNaF3008211_BB

Table 26. Bioburden testing – second batch AVNaF3008211_BB

Шифра на примерок / Sample code	Резултати / Results
1 AVNaF3008211_BB1	Стерилен / Sterile
2 AVNaF3008211_BB2	Стерилен / Sterile
3 AVNaF3008211_BB3	Стерилен / Sterile
4 AVNaF3008211_BB4	Стерилен / Sterile
5 AVNaF3008211_BB5	Стерилен / Sterile
6 AVNaF3008211_BB6	Стерилен / Sterile
7 AVNaF3008211_BB7	Стерилен / Sterile
8 AVNaF3008211_BB8	Стерилен / Sterile
9 AVNaF3008211_BB9	Стерилен / Sterile
10 AVNaF3008211_BB10	Стерилен / Sterile
11 AVNaF3008211_EN	<5 IU/mL

Табела 27. Тест за биолошко оптоварување – трета серија AVNaF3108211_BB

Table 27. Bioburden testing – third batch AVNaF3108211_BB

Шифра на примерок / Sample code	Резултати / Results
1 AVNaF3108211_BB1	Стерилен / Sterile
2 AVNaF3108211_BB2	Стерилен / Sterile
3 AVNaF3108211_BB3	Стерилен / Sterile
4 AVNaF3108211_BB4	Стерилен / Sterile
5 AVNaF3108211_BB5	Стерилен / Sterile
6 AVNaF3108211_BB6	Стерилен / Sterile
7 AVNaF3108211_BB7	Стерилен / Sterile
8 AVNaF3108211_BB8	Стерилен / Sterile
9 AVNaF3108211_BB9	Стерилен / Sterile
10 AVNaF3108211_BB10	Стерилен / Sterile
11 AVNaF3108211_EN	<5 IU/mL

Резултатите од трите серии Media fill се прикажани табеларно (табели 28, 29, 30, соодветно).

Табела 28. Media fill тест – прва серија AVNaF1708211_MF

Table 28. Media fill testing – first batch AVNaF1708211_MF

Медиум за раст на микроорганизми / Media fill type		TSB-ST
Сериски број на Media fill / Serial number Media fill		1007954450
Шифра на примерок / Sample code		Резултати / Results
1	AVNaF1708211_MF1	Стерилен / Sterile
2	AVNaF1708211_MF2	Стерилен / Sterile
3	AVNaF1708211_MF3	Стерилен / Sterile
4	AVNaF1708211_MF4	Стерилен / Sterile
5	AVNaF1708211_MF5	Стерилен / Sterile
6	AVNaF1708211_MF6	Стерилен / Sterile
7	AVNaF1708211_MF7	Стерилен / Sterile
8	AVNaF1708211_MF8	Стерилен / Sterile
9	AVNaF1708211_MF9	Стерилен / Sterile
10	AVNaF1708211_MF10	Стерилен / Sterile
11	AVNaF1708211_EN	6,42 IU/mL

Табела 29. Media fill тест – втора серија AVNaF2308211_MF

Table 29. Media fill testing – second batch AVNaF2308211_MF

Медиум за раст на микроорганизми / Media fill type		TSB-ST
Сериски број на Media fill / Serial number Media fill		1007954450
Шифра на примерок / Sample code		Резултати / Results
1	AVNaF2308211_MF1	Стерилен / Sterile
2	AVNaF2308211_MF2	Стерилен / Sterile
3	AVNaF2308211_MF3	Стерилен / Sterile
4	AVNaF2308211_MF4	Стерилен / Sterile
5	AVNaF2308211_MF5	Стерилен / Sterile
6	AVNaF2308211_MF6	Стерилен / Sterile
7	AVNaF2308211_MF7	Стерилен / Sterile
8	AVNaF2308211_MF8	Стерилен / Sterile
9	AVNaF2308211_MF9	Стерилен / Sterile
10	AVNaF2308211_MF10	Стерилен / Sterile
11	AVNaF2308211_EN	7,21 IU/mL

Табела 30. Media fill тест – трета серија AVNaF2408211_MF

Table 30. Media fill testing – third batch AVNaF2408211_MF

Медиум за раст на микроорганизми / Media fill type		TSB-ST
Сериски број на Media fill / Serial number Media fill		1007954450
Шифра на примерок / Sample code		Резултати / Results
1	AVNaF2408211_MF1	Стерилен / Sterile
2	AVNaF2408211_MF2	Стерилен / Sterile
3	AVNaF2408211_MF3	Стерилен / Sterile
4	AVNaF2408211_MF4	Стерилен / Sterile
5	AVNaF2408211_MF5	Стерилен / Sterile
6	AVNaF2408211_MF6	Стерилен / Sterile
7	AVNaF2408211_MF7	Стерилен / Sterile
8	AVNaF2408211_MF8	Стерилен / Sterile
9	AVNaF2408211_MF9	Стерилен / Sterile
10	AVNaF2408211_MF10	Стерилен / Sterile
11	AVNaF2408211_EN	6,74 IU/mL

Откако беа поделени сите дози со медиум кој поддржува раст на микроорганизми, пред да биде затворена серијата беше изведен тест за интегритет на филтер (BPT) за да се докаже ефикасноста на користениот филтер за стерилизација. Извештаите од BPT за трите серии се прикажани на сликите 65, 66, 67, соодветно. Резултатите од тестот за интегритет на филтерот за трите серии беа 3,4 bar. При рутинско производство, кога тестот за интегритет на филтер се изведува со физиолошки раствор, вредностите коишто се добиваат се движат во опсег од 3,80 до 4,20 bar. Помалиот притисок добиен при тестирање на филтерот во сериите на асептична валидација со Media fill се должи на густината на медиумот кој поддржува раст на микроорганизми.

BATCH NAME	AVNaF1708211_MF	TARGET CONCENTRATION (at REF. TIME)	1000.00 MBq/ml	@	17/08/2021 09:15:00
OPERATOR	MarjaAt	MEASURED CONCENTRATION (at REF. TIME)	0.00 MBq/ml	@	17/08/2021 09:15:00
START TIME	17/08/2021 09:16:30	TYPE OF DILUTING AGENT	TSB-ST		
END TIME	17/08/2021 10:01:47	DILUTING AGENT LOT ID	1007954450		
TRACER	F18	RADIOMEDICINE LOT ID			
SYNTHESIS ACTIVITY	0.00 MBq	@	17/08/2021 09:15:00	DISPOSABLE KIT LOT ID	VM-21-019
SYNTHESIS VOLUME	0.00 ml				
VOL. OF DILUTING AGENT	5.00 ml (presol.)	+	95.00 ml (dil.)		
VIAL UNIQUE ID	0366885241	B.P.T. TEST START TIME	17/08/2021 09:57:01		
VIAL INTERNAL ID	BPT	B.P.T. TEST END TIME	17/08/2021 09:58:27		
VIAL POSITION	12	B.P.T. TEST FINAL PRESSURE	3.39 bar		
DILUENT VOLUME	16.00 ml				

Слика 65. BPT извештај - прва серија асептична валидација Media fill тест

Figure 65. BPT report - first batch aseptic validation Media fill test

BATCH NAME	AVNaF2308211_MF			TARGET CONCENTRATION (at REF. TIME)	1000.00 MBq/ml	@	23/08/2021 12:30:13
OPERATOR	MarijaAt			MEASURED CONCENTRATION (at REF. TIME)	0.00 MBq/ml	@	23/08/2021 12:30:13
START TIME	23/08/2021 12:46:09			TYPE OF DILUTING AGENT	TSB-ST		
END TIME	23/08/2021 13:30:20			DILUTING AGENT LOT ID	1007954450		
TRACER	F18			RADIOMEDICINE LOT ID			
SYNTHESIS ACTIVITY	0.00 MBq	@	23/08/2021 12:30:13	DISPOSABLE KIT LOT ID	VM-21-019		
SYNTHESIS VOLUME	0.00 ml						
VOL. OF DILUTING AGENT	5.00 ml (predil.)	+	95.00 ml (dil.)				
VIAL UNIQUE ID	0367417460			B.P.T. TEST START TIME	23/08/2021 13:24:25		
VIAL INTERNAL ID	BPT			B.P.T. TEST END TIME	23/08/2021 13:25:50		
VIAL POSITION	12			B.P.T. TEST FINAL PRESSURE	3.39 bar		
DILUENT VOLUME	16.00 ml						

Слика 66. BPT извештај - втора серија асептична валидација Media fill тест

Figure 66. BPT report - second batch aseptic validation Media fill test

BATCH NAME	AVNaF2408211_MF			TARGET CONCENTRATION (at REF. TIME)	1000.00 MBq/ml	@	24/08/2021 05:15:00
OPERATOR	MarijaAt			MEASURED CONCENTRATION (at REF. TIME)	0.00 MBq/ml	@	24/08/2021 05:15:00
START TIME	24/08/2021 04:56:22			TYPE OF DILUTING AGENT	TSB-ST		
END TIME	24/08/2021 05:43:42			DILUTING AGENT LOT ID	1007954450		
TRACER	F18			RADIOMEDICINE LOT ID			
SYNTHESIS ACTIVITY	0.00 MBq	@	24/08/2021 05:15:00	DISPOSABLE KIT LOT ID	VM-21-019		
SYNTHESIS VOLUME	0.00 ml						
VOL. OF DILUTING AGENT	5.00 ml (predil.)	+	95.00 ml (dil.)				
VIAL UNIQUE ID	0367444231			B.P.T. TEST START TIME	24/08/2021 05:35:35		
VIAL INTERNAL ID	BPT			B.P.T. TEST END TIME	24/08/2021 05:37:01		
VIAL POSITION	12			B.P.T. TEST FINAL PRESSURE	3.39 bar		
DILUENT VOLUME	16.00 ml						

Слика 67. BPT извештај - трета серија асептична валидација Media fill тест

Figure 67. BPT report - third batch aseptic validation Media fill test

За време на изведбата на асептичната валидација беше спроведен микробиолошки мониторинг. Таложни плочи и отпечатоци од ракавици беа поставени според слика 11 Локациски план за микробиолошки мониторинг во оловен кабинет Talia. Резултатите од микробиолошкиот мониторинг се прикажани во табела 31.

Табела 31. Микробиолошки мониторинг - асептична валидација

Table 31. Microbiological monitoring - aseptic validation

Позиција / Position		Таложни плочи / Settle plate (CFU/4 hours)			Отпечаток од ракавица 5 прсти / Glove fingerprint (CFU/ракавица) / CFU/glove			
		П3	П5	П11	ОП1	ОП2	ОП3	ОП4
Серија број / Batch no.	1 Bioburden	0	0	1	0	0	0	0
	2 Bioburden	0	0	0	0	0	0	0
	3 Bioburden	0	0	0	0	0	0	0
	1 Media fill	0	0	0	0	0	0	0
	2 Media fill	0	0	1	0	0	0	0
	3 Media fill	0	0	0	0	0	0	0

5.7. Студија на стабилност

Студијата на стабилност на [¹⁸F]NaF радиофармацевтик беше изведена на три серии произведени со апарат за делење на дози со користење на модифициран кит (4.2.1. Методи во производство) со целна концентрација 1000 MBq/mL. Целната концентрација што беше користена беше дефинирана врз основа на највисока целна концентрација која ќе се користи во производствениот процес. Фреквенцијата на тестирање беше дефинирана на секои два часа во рок од десет часа (крај на синтеза (EOS), вториот, четвртиот, шестиот, осмиот и десеттиот час).

На сликите 68, 69 и 70 се прикажани извештаите од делење на дози за трите серии, а на сликите 71, 72 и 73 се прикажани извештаите од тест за интегритет на филтер. Овие извештаи се креираат автоматски откако серијата ќе биде затворена. Во текот на производствениот процес беше спроведен и физички мониторинг. Концентрацијата на честички во текот на производството за првата серија беше измерена 0 counts/m³ за честички со големина од 5 µm, а за честички со големина од 0,5 µm вредноста изнесуваше 1 counts/m³. За втората серија беше измерена 0 counts/m³ за честички со големина од 5 µm, а за честички со големина од 0,5 µm беше 7 counts/m³. Во третата серија беше измерено 0 counts/m³ за честички со големина од 5 µm, а за честички со големина од 0,5 µm беа измерени 19 counts/m³ (слики 74, 75, 76).

BATCH NAME		NaF2909211			TARGET CONCENTRATION		1000.00 MBq/ml	@	29/09/2021 07:09:29					
OPERATOR		stefano			MEASURED CONCENTRATION		1000.00 MBq/ml	@	29/09/2021 07:09:29					
START TIME		29/09/2021 06:26:42			TYPE OF DILUTING AGENT		0.9% NaCl							
END TIME		29/09/2021 07:49:31			DILUTING AGENT LOT ID		VM-21-034							
TRACER		F18			RADIOMEDICINE LOT ID									
SYNTHESIS ACTIVITY		13110.00 MBq	@	29/09/2021 07:09:29		DISPOSABLE KIT LOT ID		VM-21-019						
SYNTHESIS VOLUME		5.06 ml												
VOL. OF DILUTING AGENT		5.00 ml (pre dil.)		+	3.05 ml (dilution)									
Id.	Customer Name	Calibration Time	Target Act. @Calib. Time	Actual Act. @Calib. Time	Actual Act. @Measure Time	Measure Time	Cycle Time	Start Time	End Time	Target Rad. Volume	Filled Rad. Volume	Target Dil. Volume	Filled Dil. Volume	Activity Error
1		29/09/2021 07:10:00	996.74 MBq	989.08 MBq	947.00 MBq	29/09/2021 07:16:53	47.0 s	29/09/2021 07:14:28	29/09/2021 07:15:34	1.00 ml	0.99 ml	0.00 ml	0.00 ml	-0.77 %
2		29/09/2021 07:10:00	996.74 MBq	946.83 MBq	878.00 MBq	29/09/2021 07:21:57	25.0 s	29/09/2021 07:19:52	29/09/2021 07:20:32	1.00 ml	0.95 ml	0.00 ml	0.00 ml	-5.01 %
3		29/09/2021 07:10:00	299.02 MBq	677.20 MBq	618.00 MBq	29/09/2021 07:24:29	12.0 s	29/09/2021 07:22:21	29/09/2021 07:23:41	0.30 ml	0.68 ml	7.70 ml	7.70 ml	126.47 %
4			0.00 MBq	0.00 MBq	0.00 MBq		0.0 s			16.00 ml	0.00 ml	0.00 ml	0.00 ml	0.00 %

Слика 68. Извештај од делење на дози - NaF2909211 прва серија

Figure 68. Distribution report - NaF2909211 first batch

BATCH NAME		NaF0410211				TARGET CONCENTRATION		1000.00 MBq/ml	@	04/10/2021 07:03:22				
OPERATOR		MarijaAt				MEASURED CONCENTRATION		1000.00 MBq/ml	@	04/10/2021 07:03:22				
START TIME		04/10/2021 06:17:27				TYPE OF DILUTING AGENT		0.9% NaCl						
END TIME		04/10/2021 07:27:40				DILUTING AGENT LOT ID		VM-21-034						
TRACER		F18				RADIOMICEDINE LOT ID								
SYNTHESIS ACTIVITY		15880.00 MBq	@	04/10/2021 07:03:22			DISPOSABLE KIT LOT ID		VM-21-019					
SYNTHESIS VOLUME		5.78 ml												
VOL. OF DILUTING AGENT		5.00 ml (predil.)	+	5.10 ml (dilution)										
Id.	Customer Name	Calibration Time	Target Act. @Calib. Time	Actual Act. @Calib. Time	Actual Act. @Measure Time	Measure Time	Cycle Time	Start Time	End Time	Target Rad. Volume	Filled Rad. Volume	Target Dil. Volume	Filled Dil. Volume	Activity Error
1		04/10/2021 06:30:00	1,234.58 MBq	1,296.49 MBq	994.00 MBq	04/10/2021 07:12:04	47.0 s	04/10/2021 07:10:07	04/10/2021 07:11:13	1.00 ml	1.05 ml	0.00 ml	0.00 ml	5.02 %
2		04/10/2021 06:30:00	1,234.58 MBq	1,209.83 MBq	901.00 MBq	04/10/2021 07:16:40	24.0 s	04/10/2021 07:14:54	04/10/2021 07:15:36	1.00 ml	0.98 ml	0.00 ml	0.00 ml	-2.00 %
3		04/10/2021 06:30:00	370.38 MBq	0.00 MBq	0.00 MBq		12.0 s	04/10/2021 07:15:59	04/10/2021 07:17:18	0.30 ml	0.30 ml	7.70 ml	7.70 ml	0.00 %
4			0.00 MBq	0.00 MBq	0.00 MBq		0.0 s			16.00 ml	0.00 ml	0.00 ml	0.00 ml	0.00 %

Слика 69. Извештај од делење на серија - NaF0410211 втора серија

Figure 69. Distribution report - NaF0410211 second batch

BATCH NAME		NaF1210211				TARGET CONCENTRATION		1000.00 MBq/ml	@	12/10/2021 07:14:57				
OPERATOR		MarijaAt				MEASURED CONCENTRATION		1000.00 MBq/ml	@	12/10/2021 07:14:57				
START TIME		12/10/2021 06:40:49				TYPE OF DILUTING AGENT		0.9% NaCl						
END TIME		12/10/2021 07:50:22				DILUTING AGENT LOT ID		VM-21-034						
TRACER		F18				RADIOMICEDINE LOT ID								
SYNTHESIS ACTIVITY		15870.00 MBq	@	12/10/2021 07:14:57			DISPOSABLE KIT LOT ID		VM-21-019					
SYNTHESIS VOLUME		5.76 ml												
VOL. OF DILUTING AGENT		5.00 ml (predil.)	+	5.11 ml (dilution)										
Id.	Customer Name	Calibration Time	Target Act. @Calib. Time	Actual Act. @Calib. Time	Actual Act. @Measure Time	Measure Time	Cycle Time	Start Time	End Time	Target Rad. Volume	Filled Rad. Volume	Target Dil. Volume	Filled Dil. Volume	Activity Error
1		12/10/2021 07:00:00	1,099.02 MBq	1,202.46 MBq	1,050.00 MBq	12/10/2021 07:21:28	47.0 s	12/10/2021 07:19:26	12/10/2021 07:20:32	1.00 ml	1.09 ml	0.00 ml	0.00 ml	9.41 %
2		12/10/2021 07:00:00	1,099.02 MBq	1,023.78 MBq	863.00 MBq	12/10/2021 07:27:03	24.0 s	12/10/2021 07:24:11	12/10/2021 07:24:53	1.00 ml	0.93 ml	0.00 ml	0.00 ml	-6.85 %
3		12/10/2021 07:00:00	329.71 MBq	0.00 MBq	0.00 MBq		0.0 s	12/10/2021 07:25:57		0.30 ml	0.00 ml	7.70 ml	0.00 ml	0.00 %
4			0.00 MBq	0.00 MBq	0.00 MBq		0.0 s			16.00 ml	0.00 ml	0.00 ml	0.00 ml	0.00 %

Слика 70. Извештај од делење на дози - NaF1210211 трета серија

Figure 70. Distribution report - NaF1210211 third batch

BATCH NAME		NaF2909211				TARGET CONCENTRATION (at REF. TIME)		1000.00 MBq/ml	@	29/09/2021 07:09:29			
OPERATOR		stefano				MEASURED CONCENTRATION (at REF. TIME)		1000.00 MBq/ml	@	29/09/2021 07:09:29			
START TIME		29/09/2021 06:26:42				TYPE OF DILUTING AGENT		0.9% NaCl					
END TIME		29/09/2021 07:49:31				DILUTING AGENT LOT ID		VM-21-034					
TRACER		F18				RADIOMICEDINE LOT ID							
SYNTHESIS ACTIVITY		13110.00 MBq	@	29/09/2021 07:09:29			DISPOSABLE KIT LOT ID		VM-21-019				
SYNTHESIS VOLUME		5.06 ml											
VOL. OF DILUTING AGENT		5.00 ml (predil.)	+	3.05 ml (dil.)									
VIAL UNIQUE ID		0370592781				B.P.T. TEST START TIME		29/09/2021 07:45:27					
VIAL INTERNAL ID		BPT				B.P.T. TEST END TIME		29/09/2021 07:47:10					
VIAL POSITION		4				B.P.T. TEST FINAL PRESSURE		4.20 bar					
DILUENT VOLUME		16.00 ml											

Слика 71. BPT извештај - NaF2909211 прва серија

Figure 71. BPT report - NaF2909211 first batch

BATCH NAME	NaF0410211	TARGET CONCENTRATION (at REF. TIME)	1000.00 MBq/ml	@	04/10/2021 07:03:22
OPERATOR	ManjaAt	MEASURED CONCENTRATION (at REF. TIME)	1000.00 MBq/ml	@	04/10/2021 07:03:22
START TIME	04/10/2021 06:17:27	TYPE OF DILUTING AGENT	0.9% NaCl		
END TIME	04/10/2021 07:27:40	DILUTING AGENT LOT ID	VM-21-034		
TRACER	F18	RADIOMEDICINE LOT ID			
SYNTHESIS ACTIVITY	15880.00 MBq	@	04/10/2021 07:03:22	DISPOSABLE KIT LOT ID	VM-21-019
SYNTHESIS VOLUME	5.78 ml				
VOL. OF DILUTING AGENT	5.00 ml (predil.)	+	5.10 ml (dil.)		
VIAL UNIQUE ID	0371025523	B.P.T. TEST START TIME	04/10/2021 07:20:37		
VIAL INTERNAL ID	BPT	B.P.T. TEST END TIME	04/10/2021 07:22:17		
VIAL POSITION	4	B.P.T. TEST FINAL PRESSURE	4.00 bar		
DILUENT VOLUME	16.00 ml				

Слика 72. BPT извештај - NaF0410211 втора серија

Figure 72. BPT report - NaF0410211 second batch

BATCH NAME	NaF1210211	TARGET CONCENTRATION (at REF. TIME)	1000.00 MBq/ml	@	12/10/2021 07:14:57
OPERATOR	ManjaAt	MEASURED CONCENTRATION (at REF. TIME)	1000.00 MBq/ml	@	12/10/2021 07:14:57
START TIME	12/10/2021 06:40:49	TYPE OF DILUTING AGENT	0.9% NaCl		
END TIME	12/10/2021 07:50:22	DILUTING AGENT LOT ID	VM-21-034		
TRACER	F18	RADIOMEDICINE LOT ID			
SYNTHESIS ACTIVITY	15870.00 MBq	@	12/10/2021 07:14:57	DISPOSABLE KIT LOT ID	VM-21-019
SYNTHESIS VOLUME	5.76 ml				
VOL. OF DILUTING AGENT	5.00 ml (predil.)	+	5.11 ml (dil.)		
VIAL UNIQUE ID	0371661583	B.P.T. TEST START TIME	12/10/2021 07:44:18		
VIAL INTERNAL ID	BPT	B.P.T. TEST END TIME	12/10/2021 07:45:58		
VIAL POSITION	4	B.P.T. TEST FINAL PRESSURE	4.00 bar		
DILUENT VOLUME	16.00 ml				

Слика 73. BPT извештај - NaF1210211 трета серија

Figure 73. BPT report - NaF0410211 third batch

Particle Counter Report, Pag: 2/2

Time	Volume	Counts 5um	Counts / m3 5um	Limit set 5um	% of limit 5um	Counts 0.5um	Counts / m3 0.5um	Limit set 0.5um	% of limit 0.5um	Sensor Ok	Operator
	lt	counts	counts/m3	counts/m3	%	counts	counts/m3	counts/m3	%		Login Name
2021/09/29 06:51:06											
29/09/2021 07:00:02	250	0	0	20	0	0	0	3520	0	true	stefano
29/09/2021 07:08:50	250	0	0	20	0	0	0	3520	0	true	stefano
29/09/2021 07:17:43	250	0	0	20	0	1	4	3520	0	true	stefano
29/09/2021 07:26:30	250	0	0	20	0	0	0	3520	0	true	stefano

Summary:

Time	Volume	Counts 5um	Counts / m3 5um	Limit set 5um	% of limit 5um	Counts 0.5um	Counts / m3 0.5um	Limit set 0.5um	% of limit 0.5um	Sensor OK
	lt	counts	counts/m3	counts/m3	%	counts	counts/m3	counts/m3	%	
29/09/2021 07:00:02										
29/09/2021 07:26:30	1000	0	0	20	0	1	1	3520	0	True

Слика 74. Извештај од бројач на честички - NaF2909211 прва серија

Figure 74. Particle counter report - NaF2909211 first batch

Particle Counter Report, Pag: 2/2

Time	Volume	Counts Sum	Counts / m3 Sum	Limit set Sum	% of limit Sum	Counts 0.5um	Counts / m3 0.5um	Limit set 0.5um	% of limit 0.5um	Sensor Ok	Operator
2021/10/04 06:31:22	It	counts	counts/m3	counts/m3	%	counts	counts/m3	counts/m3	%		Login Name
04/10/2021 06:40:16	250	0	0	20	0	0	0	3520	0	true	MarijaAt
04/10/2021 06:49:09	250	0	0	20	0	1	4	3520	0	true	MarijaAt
04/10/2021 06:57:57	250	0	0	20	0	2	8	3520	0	true	MarijaAt
04/10/2021 07:06:49	250	0	0	20	0	4	16	3520	0	true	MarijaAt
04/10/2021 07:15:38	250	0	0	20	0	1	4	3520	0	true	MarijaAt
04/10/2021 07:24:28	250	0	0	20	0	0	0	3520	0	true	MarijaAt

Summary:

Time	Volume	Counts Sum	Counts / m3 Sum	Limit set Sum	% of limit Sum	Counts 0.5um	Counts / m3 0.5um	Limit set 0.5um	% of limit 0.5um	Sensor OK
04/10/2021 06:40:16	It	counts	counts/m3	counts/m3	%	counts	counts/m3	counts/m3	%	
04/10/2021 07:06:49	1000	0	0	20	0	7	7	3520	0	True
04/10/2021 07:24:28	500	0	0	20	0	1	2	3520	0	True

Слика 75. Извештај од бројач на честички - NaF0410211 втора серија

Figure 75. Particle counter report - NaF0410211 second batch

Particle Counter Report, Pag: 2/2

Time	Volume	Counts Sum	Counts / m3 Sum	Limit set Sum	% of limit Sum	Counts 0.5um	Counts / m3 0.5um	Limit set 0.5um	% of limit 0.5um	Sensor Ok	Operator
2021/10/12 06:46:27	It	counts	counts/m3	counts/m3	%	counts	counts/m3	counts/m3	%		Login Name
12/10/2021 06:55:24	250	0	0	20	0	11	44	3520	1	true	MarijaAt
12/10/2021 07:04:17	250	0	0	20	0	6	24	3520	1	true	MarijaAt
12/10/2021 07:13:03	250	0	0	20	0	2	8	3520	0	true	MarijaAt
12/10/2021 07:21:56	250	0	0	20	0	0	0	3520	0	true	MarijaAt
12/10/2021 07:30:43	250	0	0	20	0	0	0	3520	0	true	MarijaAt
12/10/2021 07:39:35	250	0	0	20	0	0	0	3520	0	true	MarijaAt

Summary:

Time	Volume	Counts Sum	Counts / m3 Sum	Limit set Sum	% of limit Sum	Counts 0.5um	Counts / m3 0.5um	Limit set 0.5um	% of limit 0.5um	Sensor OK
12/10/2021 06:55:24	It	counts	counts/m3	counts/m3	%	counts	counts/m3	counts/m3	%	
12/10/2021 07:21:56	1000	0	0	20	0	19	19	3520	1	True
12/10/2021 07:39:35	500	0	0	20	0	0	0	3520	0	True

Слика 76. Извештај од бројач на честички - NaF1210211 трета серија

Figure 76. Particle counter report - NaF1210211 third batch

Тестовите дефинирани во спецификацијата за $[^{18}\text{F}]$ Натриум флуорид раствор за инјектирање беа испитани според фреквенцијата дефинирана во метод 4.2.5.

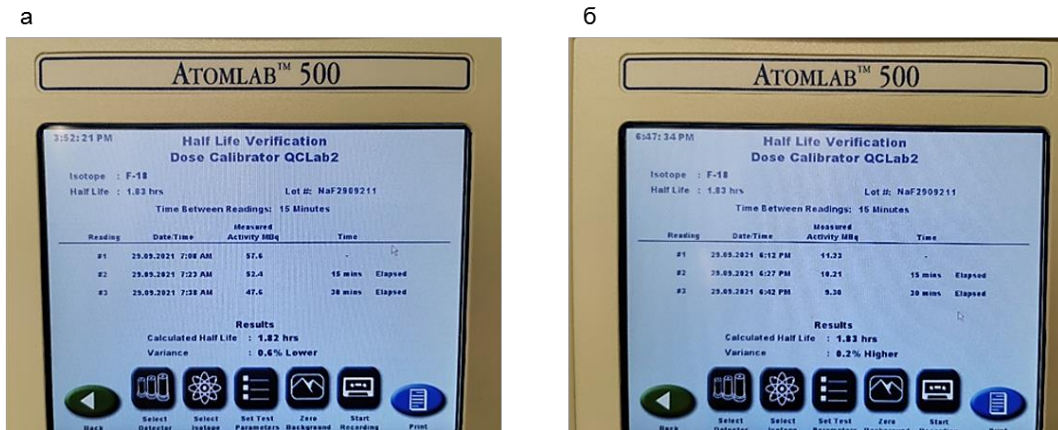
- **Идентификација**

Идентификацијата на радиоизотопот беше направена со одредување на период на полураспаѓање и со споредба на ретенционите времиња на хроматограмите добиени од стандардот (кондуктометриски детектор) и примерокот.

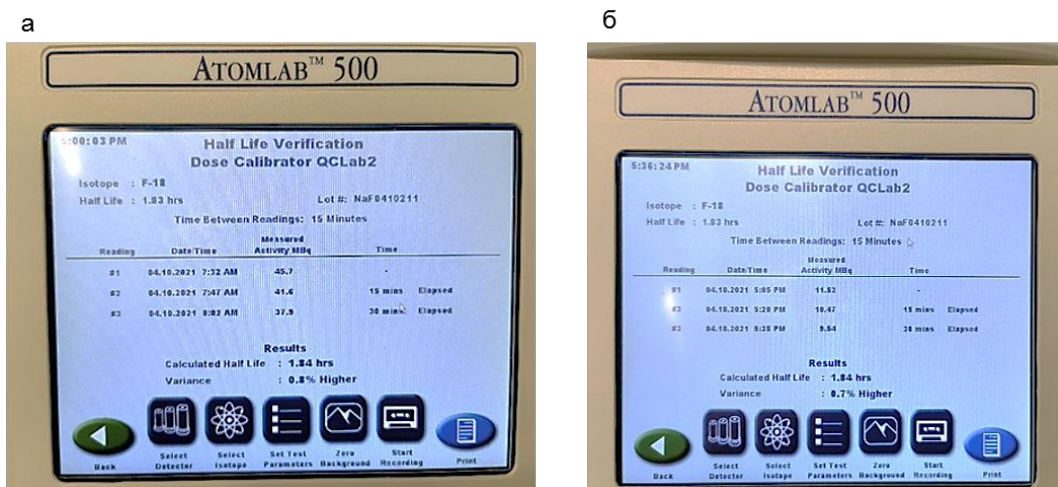
- **Период на полураспаѓање**

Во трите серии периодот на полураспаѓање беше мерен на идентичен начин, во ист дозен калибратор Atomlab 500 откако е доставен примерокот до лабораторија за контрола на квалитет, на крај на синтеза (EOS) и по 10 часа.

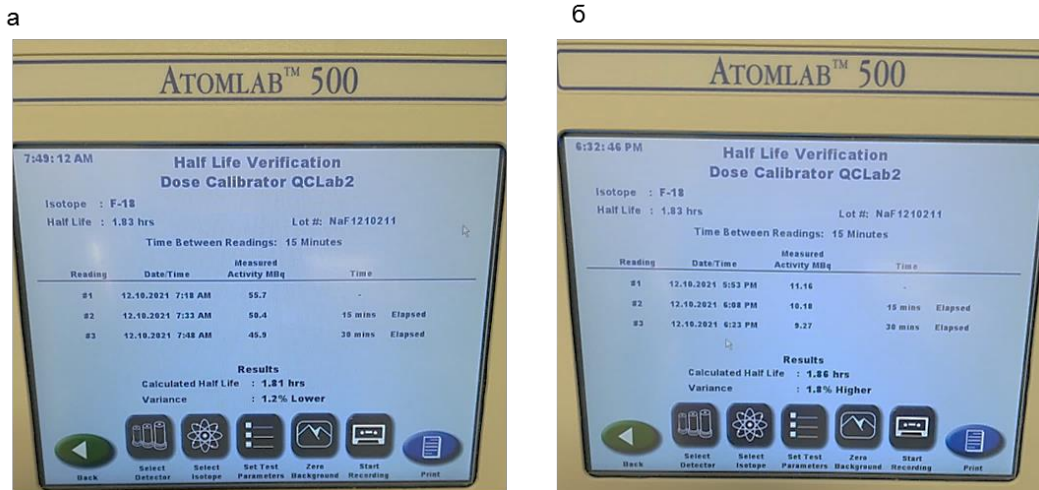
Резултатите од трите серии во двете тестирани точки беа во критериумот на прифатливост (1,75-1,92 часа). Резултатите се прикажани на сликите 77, 78, 79 и во табела 32.



Слика 77. Период на полураспаѓање - прва серија NaF2909211 а) EOS б) 10 h
 Figure 77. Half-life determination - first batch NaF2909211 а) EOS б) 10 h



Слика 78. Период на полураспаѓање - втора серија NaF0410211 а) EOS б) 10 h
 Figure 78. Half-life determination - second batch NaF0410211 а) EOS б) 10 h



Слика 79. Период на полураспаѓање - трета серија NaF1210211 а) EOS б) 10 h
 Figure 79. Half-life determination - third batch NaF1210211 а) EOS б) 10 h

Табела 32. Одредување на период на полураспаѓање - студија на стабилност
 Table 32. Half-life determination - stability study

Серија / Batch	Временски точки / Time points	
	EOS – 0 h	10 h
NaF2909211	1,82	1,83
NaF0410211	1,84	1,84
NaF1210211	1,81	1,86

○ *Разлика во ретенционо време*

Идентификацијата беше направена со споредба на ретенционите времиња (Rt) на стандардниот раствор добиен со кондуктометрискиот детектор и примерокот добиен со радиодетекторот. Хроматограмите со ретенционите времиња се прикажани на сликите 80 - 86. Резултатите добиени од сите тестирани точки се прикажани во табела 33.

Табела 33. Идентификација - разлика во ретенциони времиња - студија на стабилност

Table 33. Identification - difference in retention time - stability study

Серија / Batch	Временски точки / Time points	Rt St (min)	Rt A (min)	Разлика Rt / Rt difference (s)
NaF2909211	0 h	6,187	5,683	30,24
	2 h	6,200	5,817	22,98
	4 h	6,193	5,803	23,4
	6 h	6,197	5,800	23,82
	8 h	6,197	5,813	23,04
	10 h	6,200	5,797	24,18
NaF0410211	0 h	6,473	6,027	26,76
	2 h	6,473	6,067	24,36
	4 h	6,467	6,070	23,82
	6 h	6,463	6,080	22,98
	8 h	6,467	6,073	23,64
	10 h	6,467	6,063	24,24
NaF1210211	0 h	6,037	5,587	27,00
	2 h	6,033	5,64	23,58
	4 h	6,030	5,643	23,22
	6 h	6,033	5,647	23,16
	8 h	6,027	5,633	23,64
	10 h	6,030	5,640	23,40

- **Приближна рН-вредност**

Приближната рН-вредност беше тестирана со рН-ленти во сите дефинирани временски точки. Измерената рН-вредност беше стабилна во текот на тестирањето (табела 34).

Табела 34. Приближна рН-вредност - студија на стабилност

Table 34. Approximate pH value - stability study

Серија / Batch	Приближна рН-вредност / Approximate pH value					
	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h
NaF2909211	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0
NaF0410211	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0
NaF1210211	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0

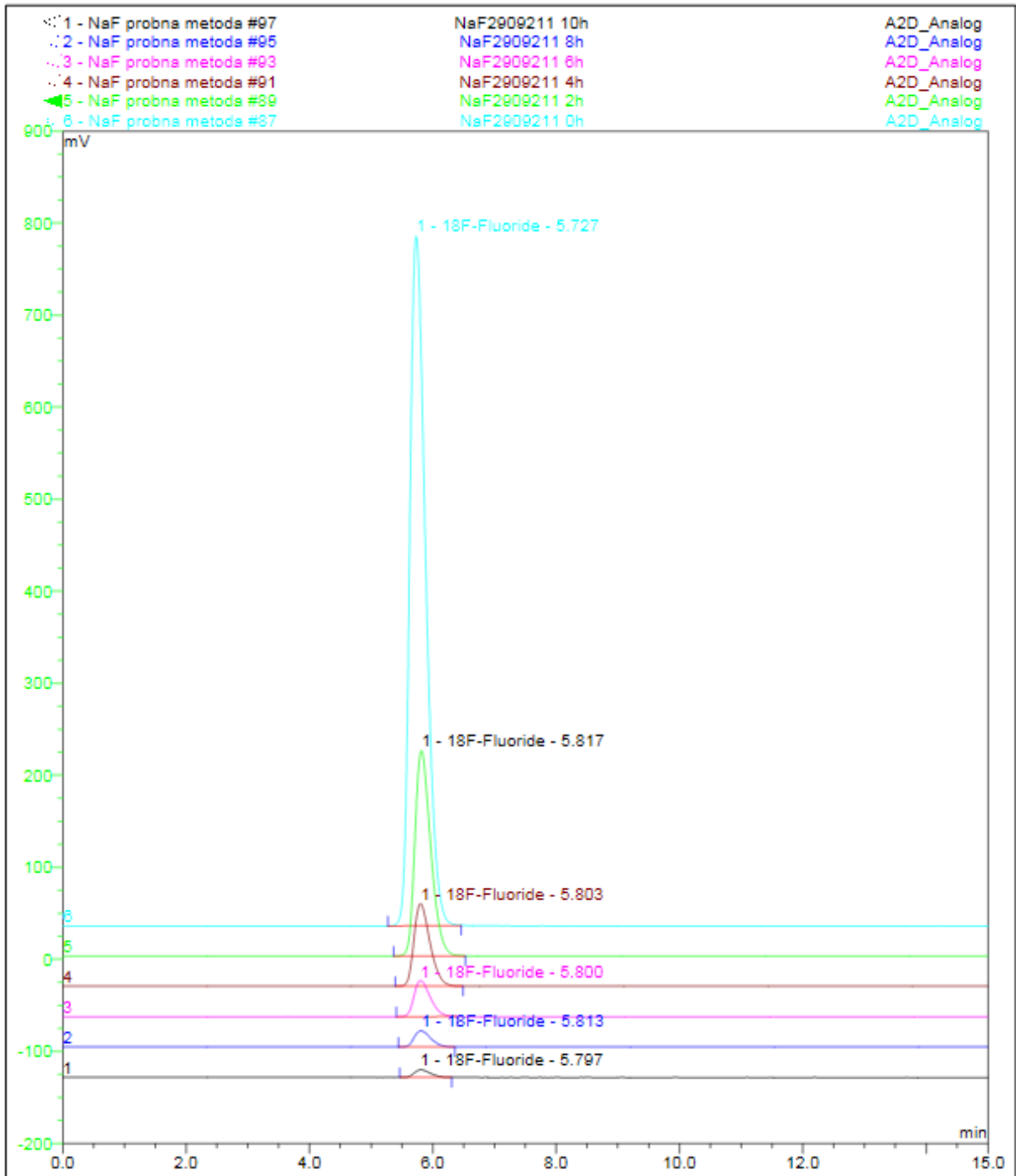
- **Радиокемиска чистота**

Квантификација на процентот од $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ во $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ раствор за инјекции беше изведена со високперформансна течна хроматографија (HPLC) со радиодетектор. Од добиените радиохромограми од трите серии во сите тестирани точки беше идентификуван само еден пик од $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ (слики 80, 81, 82). Резултатите се прикажани во табела 35.

Табела 35. Радиокемиска чистота - студија на стабилност

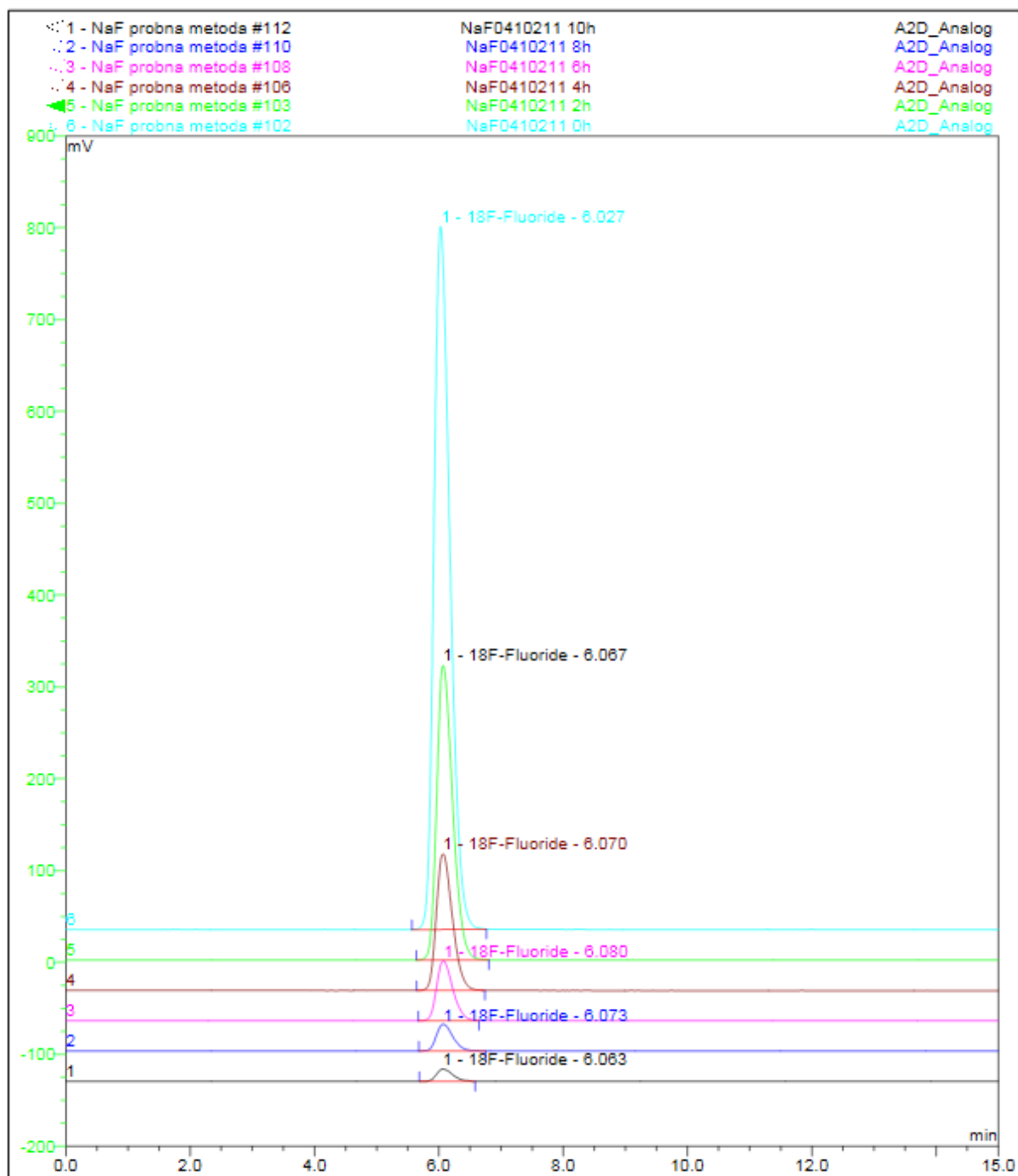
Table 35. Radiochemical purity - stability study

Серија / Batch	Радиокемиска чистота / Radiochemical purity (%)					
	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h
NaF2909211	100	100	100	100	100	100
NaF0410211	100	100	100	100	100	100
NaF1210211	100	100	100	100	100	100



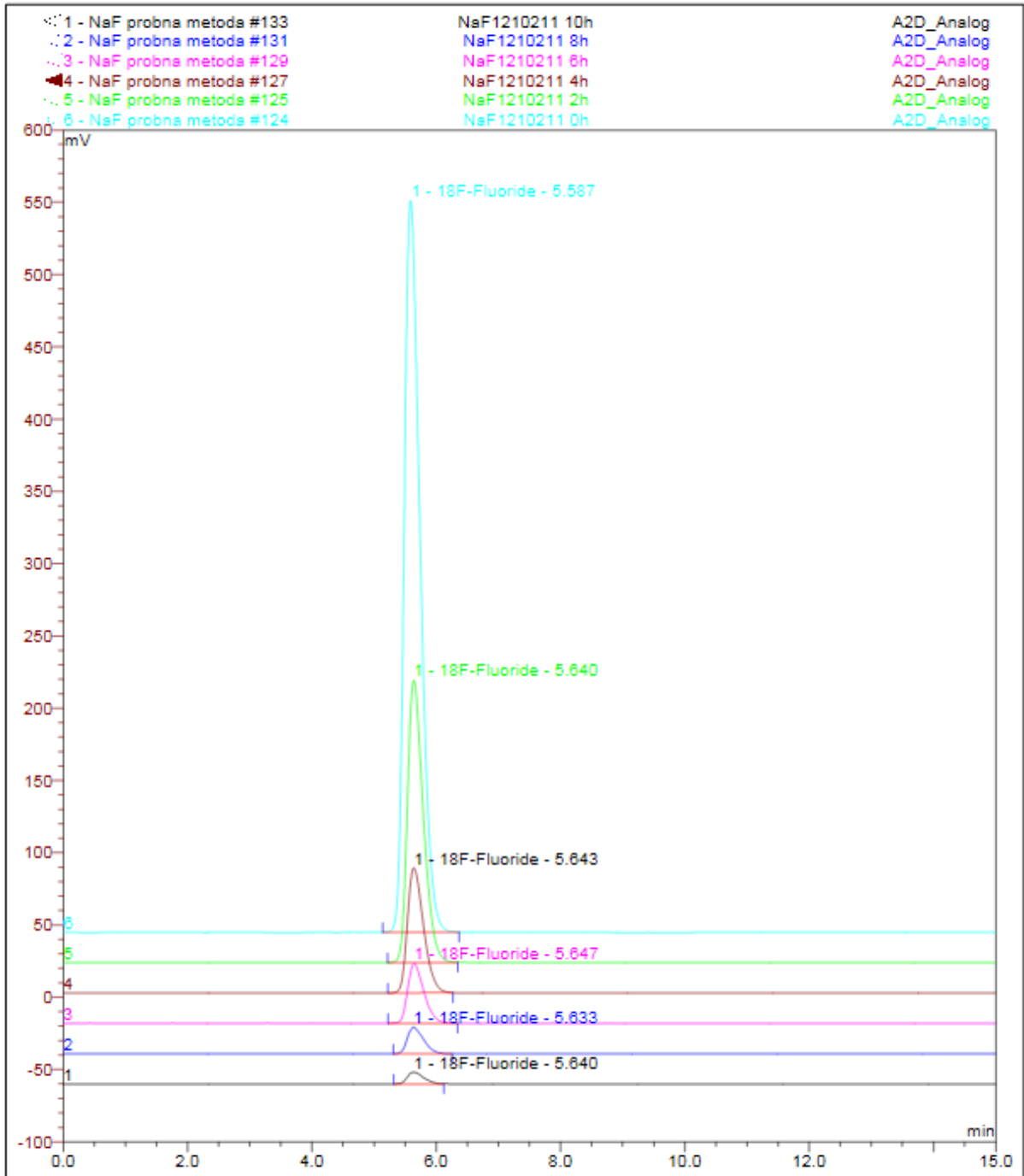
Слика 80. Радиохемиска чистота - преклопени хроматограми од прва серија NaF2909211

Figure 80. Overlay chromatograms radiochemical purity first batch NaF2909211



Слика 81. Радиохемиска чистота - преклопени хроматограми од втора серија NaF0410211

Figure 81. Overlay chromatograms radiochemical purity second batch NaF0410211



Слика 82. Радиохемиска чистота - преклопени хроматограми од трета серија NaF1210211

Figure 82. Overlay chromatograms radiochemical purity third batch NaF1210211

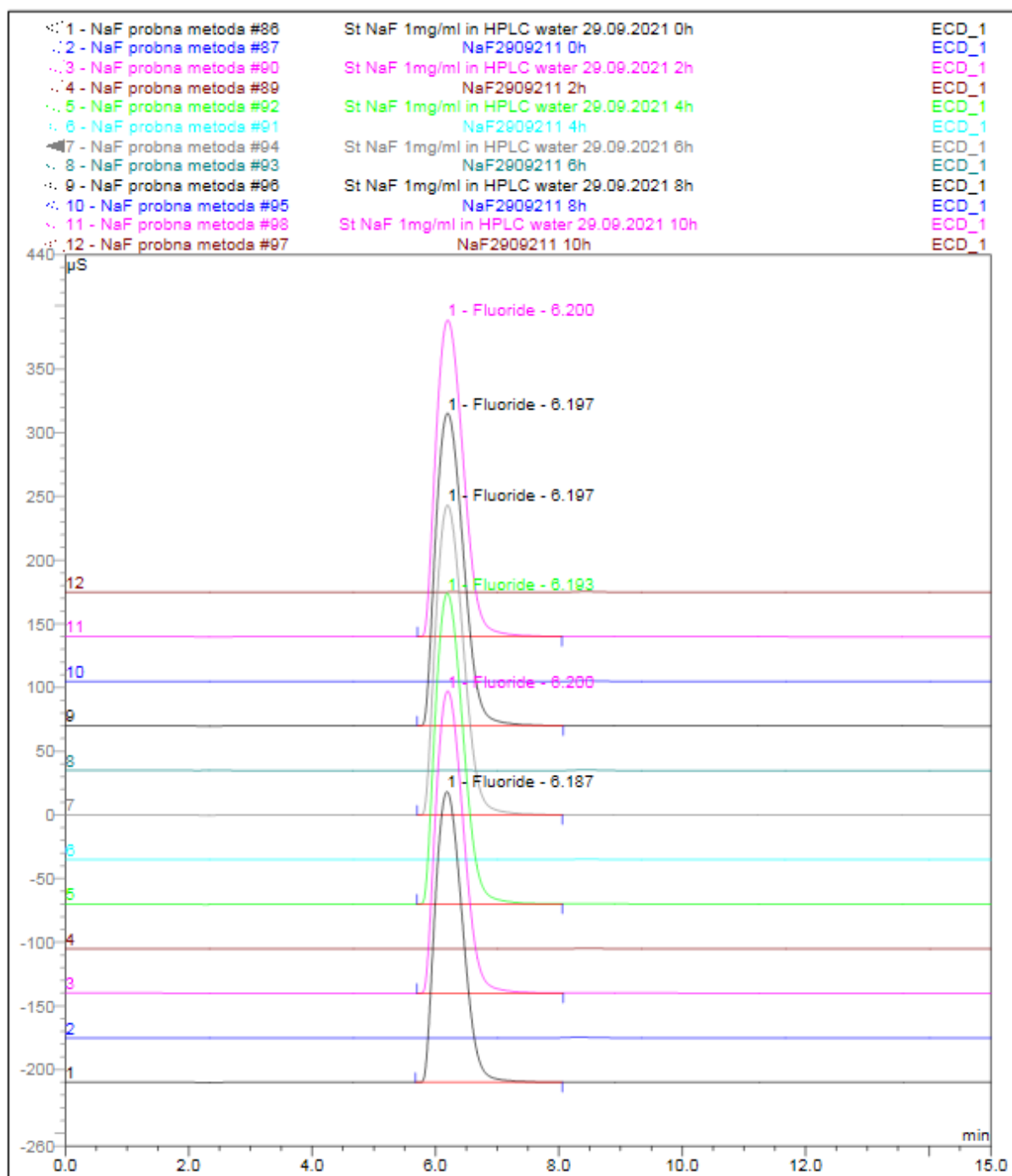
- **Хемиска чистота**

Во трите серии не е детектирана количина на нерадиоактивен флуорид како единствено хемиско онечистување кое може да се јави во финалниот примерок.

Табела 36. Хемиска чистота - студија на стабилност

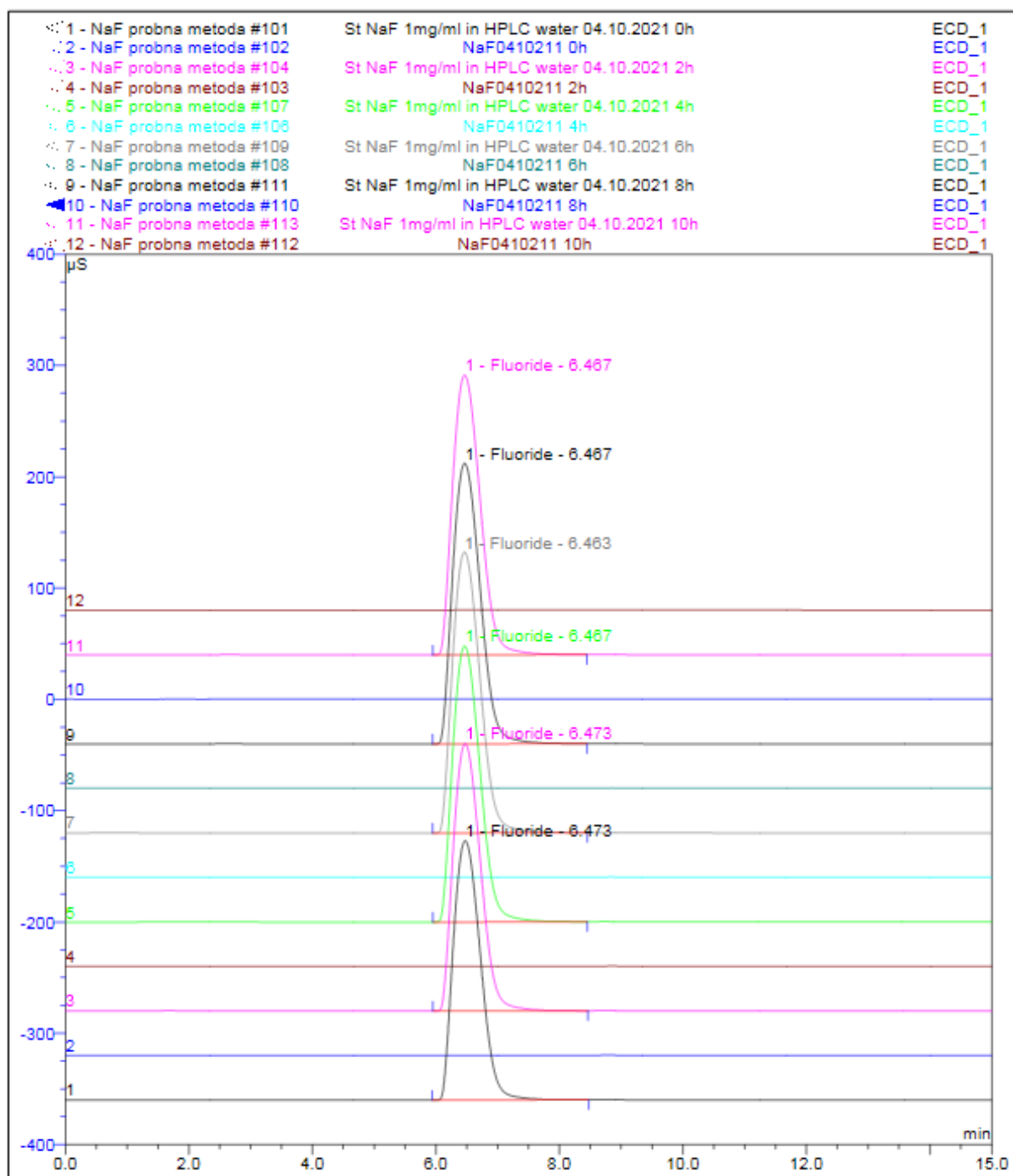
Table 36. Chemical purity - stability study

Серија / Batch	Временски точки / Time points	AUC St ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$)	AUC A ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$)	F- (mg/mL)
NaF2909211	0 h	115,9	0	0
	2 h	122,2	0	0
	4 h	126,4	0	0
	6 h	125,7	0	0
	8 h	127,3	0	0
	10 h	127,6	0	0
NaF0410211	0 h	117,57	0	0
	2 h	121,99	0	0
	4 h	126,6	0	0
	6 h	129,24	0	0
	8 h	129,31	0	0
	10 h	128,91	0	0
NaF1210211	0 h	116,222	0	0
	2 h	125,809	0	0
	4 h	130,526	0	0
	6 h	129,489	0	0
	8 h	128,131	0	0
	10 h	130,723	0	0



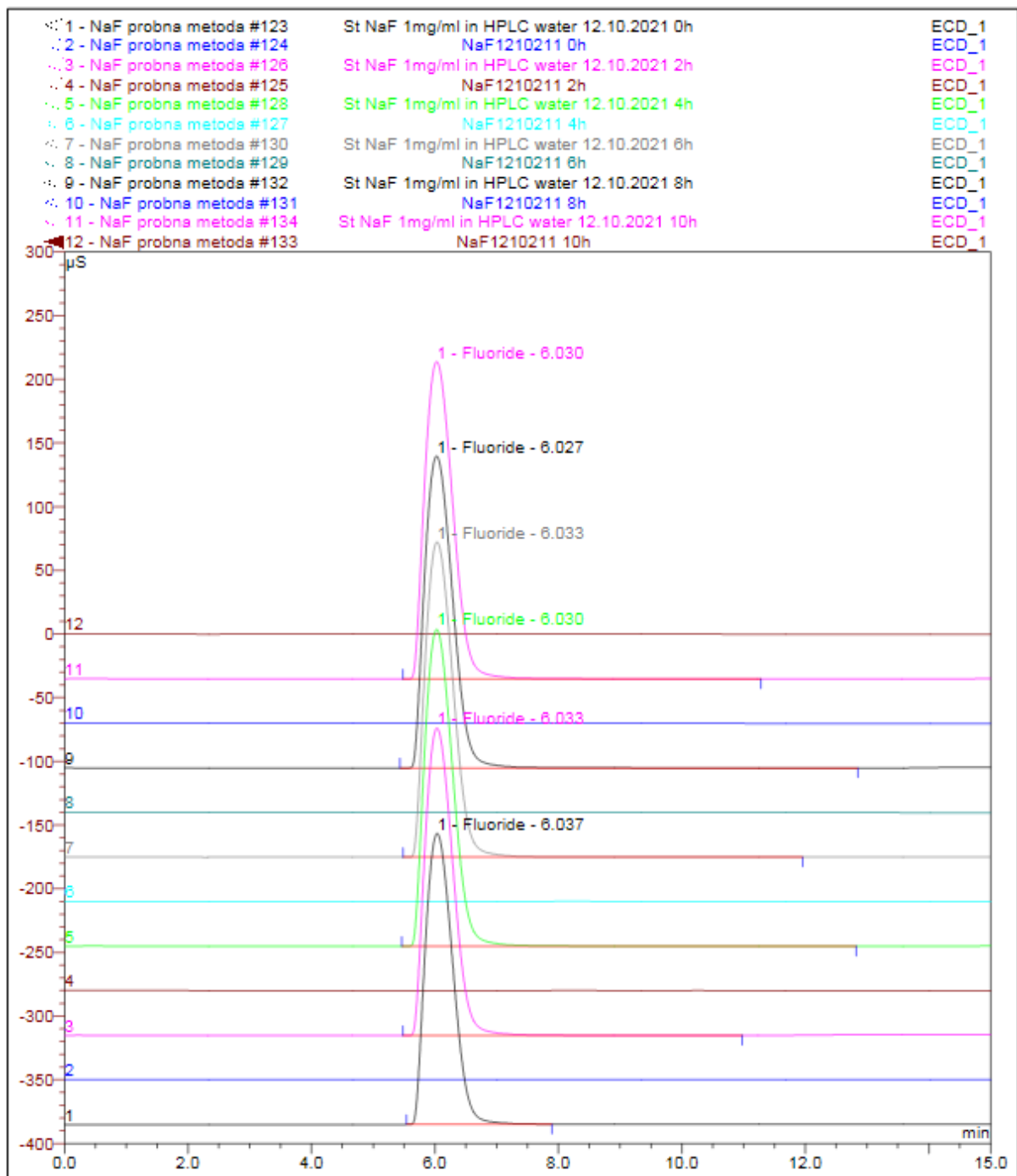
Слика 83. Хемиска чистота - преклопени хроматограми од прва серија NaF2909211

Figure 83. Overlay chromatograms chemical purity first batch NaF2909211



Слика 84. Хемиска чистота - преклопени хроматограми од втора серија NaF0410211

Figure 84. Overlay chromatograms chemical purity second batch NaF0410211



Слика 85. Хемиска чистота - преклопени хроматограми од трета серија NaF1210211

Figure 85. Overlay chromatograms chemical purity third batch NaF1210211

- **Бактериски ендотоксини**

Бактериските ендотоксини беа тестирани во три временски точки: EOS, 8 часа и 10 часа. Добиените резултати во трите серии беа помалку од 5 IU/mL.

Табела 37. Бактериски ендотоксини - студија на стабилност

Table 37. Bacterial endotoxins - stability study

Серија / Batch	Временски точки / Time points	Бактериски ендотоксини / Bacterial endotoxins (IU/mL)
NaF2909211	0 h	< 5
	8 h	< 5
	10 h	< 5
NaF0410211	0 h	< 5
	8 h	< 5
	10 h	< 5
NaF1210211	0 h	< 5
	8 h	< 5
	10 h	< 5

<p>a</p> <pre> ***** ENDOSAFE Test Record ***** V712F 3/26/2015 DateTime: 09/29/21 @ 06:30:31 Device: 8714 OperatorID: MAJAN Cartridge: Endotoxin Temperature: .. Start: 37.0C End: 37.0C Method: KX-122 Cartridge Lot#: 6604162 Cartridge Cal Code: 513734147925 Range: 5-0.05 Range Time: Sec: 137-741 Onset Times: >741 204 >741 200 Slope: -0.367 Intercept: +2.393 Dilution: 100 Sample Lot: NAF2909211-0 Sample ID: 18NAF Sample Run Time CV: 0.0% Pass Spike Value: 1.48 EU/mL Spike Run Time CV: 1.4% Pass Spike Recovery: 170% Pass Test Suitability: Pass Sample Value: <5.00 EU/mL </pre>	<p>b</p> <pre> ***** ENDOSAFE Test Record ***** V712F 3/26/2015 DateTime: 09/29/21 @ 15:16:07 Device: 8714 OperatorID: FILIPJ Cartridge: Endotoxin Temperature: .. Start: 37.0C End: 37.0C Method: KX-122 Cartridge Lot#: 6604162 Cartridge Cal Code: 513734147925 Range: 5-0.05 Range Time: Sec: 137-741 Onset Times: >741 230 >741 242 Slope: -0.367 Intercept: +2.393 Dilution: 100 Sample Lot: NAF2909211-8 Sample ID: 18NAF Sample Run Time CV: 0.0% Pass Spike Value: 1.08 EU/mL Spike Run Time CV: 3.6% Pass Spike Recovery: 109% Pass Test Suitability: Pass Sample Value: <5.00 EU/mL </pre>	<p>v</p> <pre> ***** ENDOSAFE Test Record ***** V712F 3/26/2015 DateTime: 09/29/21 @ 17:34:27 Device: 8714 OperatorID: FILIPJ Cartridge: Endotoxin Temperature: .. Start: 37.0C End: 37.0C Method: KX-122 Cartridge Lot#: 6604162 Cartridge Cal Code: 513734147925 Range: 5-0.05 Range Time: Sec: 137-741 Onset Times: >741 230 >741 246 Slope: -0.367 Intercept: +2.393 Dilution: 100 Sample Lot: NAF2909211-10 Sample ID: 18NAF Sample Run Time CV: 0.0% Pass Spike Value: 1.06 EU/mL Spike Run Time CV: 4.8% Pass Spike Recovery: 107% Pass Test Suitability: Pass Sample Value: <5.00 EU/mL </pre>
--	---	--

Слика 86. Бактериски ендотоксини - NaF2909211 а) 0 h, б) 8 h, в) 10 h

Figure 86. Bacterial endotoxins - NaF2909211 а) 0 h, б) 8 h, в) 10 h

а	б	в
<pre> ***** ENDOSAFE Test Record ***** V712F 3/26/2015 DateTime: 10/04/21 @ 06:20:55 Device: 8714 OperatorID: NAJAV Cartridge: Endotoxin Temperature: .. Start: 37.0C End: 37.0C Method: KX-122 Cartridge Lot#: 6604162 Cartridge Cal Code: 513734147925 Range: 5-0.05 Range Time: Sec: 137-741 Onset Times: >741 238 >741 240 Slope: -0.367 Intercept: +2.393 Dilution: 100 Sample Lot: NAF0410211-0 Sample ID: 18NAF Sample Run Time CV: 0.01 Pass Spike Value: 1.05 EU/mL Spike Run Time CV: 0.6X Pass Spike Recovery: 106X Pass Test Suitability: Pass Sample Value: <5.00 EU/mL </pre>	<pre> ***** ENDOSAFE Test Record ***** V712F 3/26/2015 DateTime: 10/04/21 @ 14:26:54 Device: 8714 OperatorID: FILIPJ Cartridge: Endotoxin Temperature: .. Start: 37.0C End: 37.0C Method: KX-122 Cartridge Lot#: 6688121 Cartridge Cal Code: 515037873532 Range: 5-0.05 Range Time: Sec: 130-778 Onset Times: >778 314 >778 326 Slope: -0.357 Intercept: -2.426 Dilution: 100 Sample Lot: NAF0410211-8 Sample ID: 18NAF Sample Run Time CV: 0.01 Pass Spike Value: 0.550 EU/mL Spike Run Time CV: 2.7X Pass Spike Recovery: 100X Pass Test Suitability: Pass Sample Value: <5.00 EU/mL </pre>	<pre> ***** ENDOSAFE Test Record ***** V712F 3/26/2015 DateTime: 10/04/21 @ 16:15:41 Device: 8714 OperatorID: FILIPJ Cartridge: Endotoxin Temperature: .. Start: 37.0C End: 37.0C Method: KX-122 Cartridge Lot#: 6688121 Cartridge Cal Code: 515037873532 Range: 5-0.05 Range Time: Sec: 150-779 Onset Times: >778 356 >778 266 Slope: -0.357 Intercept: +2.426 Dilution: 100 Sample Lot: NAF0410211-10 Sample ID: 18NAF Sample Run Time CV: 0.0X Pass Spike Value: 0.600 EU/mL Spike Run Time CV: 20.5X Pass Spike Recovery: 109X Pass Test Suitability: Pass Sample Value: <5.00 EU/mL </pre>

Слика 87. Бактериски ендотоксини - NaF0410211 а) 0 h, б) 8 h, в) 10 h

Figure 87. Bacterial endotoxins - NaF0410211 а) 0 h, б) 8 h, в) 10 h

а	б	в
<pre> ***** ENDOSAFE Test Record ***** V712F 3/26/2015 DateTime: 10/12/21 @ 06:39:41 Device: 8714 OperatorID: NAJAV Cartridge: Endotoxin Temperature: .. Start: 37.0C End: 37.0C Method: KX-122 Cartridge Lot#: 6688121 Cartridge Cal Code: 515037873532 Range: 5-0.05 Range Time: Sec: 150-778 Onset Times: >778 326 >778 330 Slope: -0.357 Intercept: +2.426 Dilution: 100 Sample Lot: NAF1210211-0 Sample ID: 18FNAF Sample Run Time CV: 0.01 Pass Spike Value: 0.510 EU/mL Spike Run Time CV: 0.9X Pass Spike Recovery: 93X Pass Test Suitability: Pass Sample Value: <5.00 EU/mL </pre>	<pre> ***** ENDOSAFE Test Record ***** V712F 3/26/2015 DateTime: 10/12/21 @ 14:46:27 Device: 8714 OperatorID: NAJAV Cartridge: Endotoxin Temperature: .. Start: 37.0C End: 37.0C Method: KX-122 Cartridge Lot#: 6688121 Cartridge Cal Code: 515037873532 Range: 5-0.05 Range Time: Sec: 150-778 Onset Times: >778 340 >778 290 Slope: -0.357 Intercept: +2.426 Dilution: 100 Sample Lot: NAF1210211-8 Sample ID: 18FNAF Sample Run Time CV: 0.01 Pass Spike Value: 0.610 EU/mL Spike Run Time CV: 4.6X Pass Spike Recovery: 112X Pass Test Suitability: Pass Sample Value: <5.00 EU/mL </pre>	<pre> ***** ENDOSAFE Test Record ***** V712F 3/26/2015 DateTime: 10/12/21 @ 16:44:44 Device: 8714 OperatorID: NAJAV Cartridge: Endotoxin Temperature: .. Start: 37.0C End: 37.0C Method: KX-122 Cartridge Lot#: 6688121 Cartridge Cal Code: 515037873532 Range: 5-0.05 Range Time: Sec: 150-778 Onset Times: >778 340 >778 304 Slope: -0.357 Intercept: +2.426 Dilution: 100 Sample Lot: NAF1210211-10 Sample ID: 18FNAF Sample Run Time CV: 0.01 Pass Spike Value: 0.540 EU/mL Spike Run Time CV: 7.9X Pass Spike Recovery: 98X Pass Test Suitability: Pass Sample Value: <5.00 EU/mL </pre>

Слика 88. Бактериски ендотоксини - NaF1210211 а) 0 h, б) 8 h, в) 10 h

Figure 88. Bacterial endotoxins - NaF1210211 а) 0 h, б) 8 h, в) 10 h

- **Стерилност**

Од трите серии беше тестиран по еден репрезентативен примерок. Трите тестираны примероци беа стерилни, односно не покажаа микробиолошки раст по инкубација од 14 дена.

- **Радионуклидна чистота**

Радионуклидни онечистувања во трите тестирани примероци од финалниот производ беа во многу низок процент. Резултатите изразени како процент на радионуклидни онечистувања во однос на вкупната радиоактивност во референтно време беа 0,0000119236574 %, 0,000060731 % и 0,0002834 % за прва, втора и трета серија, соодветно. Критериумот на прифатливост е $\leq 0,1$ % од вкупната радиоактивност во референтно време.

Збирните резултати од изведената студија на стабилност се прикажани табеларно (табела 38).

Табела 38. Резултати - студија на стабилност
Table 38. Results - stability study

Тестови	EOS	NaF2909211 2 часа	4 часа	6 часа	8 часа	10 часа
Изглед			Бистра, безбојна течност			
Разлика во ретенцијоното t ₁₂ (часови)	27,42 1,82	22,98 /	23,4 /	24,18 /	26,76 /	24,36 1,83
pH			6,5 - 7,0			
Радиохемишка чистота			100			
Хемиска чистота (mg/mL)			≤ 0,452			
Бактериски ендотоксини (IU/mL)	<5,00	/	/	/	<5,00	<5,00
Стерилност			Стерилен примерок			
Радионуклидна чистота (%)		NaF0410211 0,00001192				
Изглед			Бистра, безбојна течност			
Разлика во ретенцијоното t ₁₂ (часови)	26,76 1,84	24,36 /	23,82 /	22,98 /	23,64 /	24,24 1,84
pH			6,5 - 7,0			
Радиохемишка чистота (%)			100			
Хемиска чистота (mg/mL)			≤ 0,452			
Бактериски ендотоксини (IU/mL)	<5,00	/	/	/	<5,00	<5,00
Стерилност			Стерилен примерок			
Радионуклидна чистота (%)		NaF1210211 0,000060731				
Изглед			Бистра, безбојна течност			
Разлика во ретенцијоното t ₁₂ (часови)	27 1,81	23,58 /	23,22 /	23,16 /	23,64 /	23,4 1,86
pH			6,5 - 7,0			
Радиохемишка чистота			100			
Хемиска чистота (mg/mL)			≤ 0,452			
Бактериски ендотоксини (IU/mL)	<5,00	/	/	/	<5,00	<5,00
Стерилност			Стерилен примерок			
Радионуклидна чистота (%)		0,0002834				

6. ДИСКУСИЈА

Примарните неоплазми многу често метастазираат во скелетниот систем. Најголема веројатност за појава на метастази во коските имаат туморите на дојка и простата. Дијагностицирањето на метастази во коските кај пациенти со малигнитет значително влијае на начинот на менаџирање на канцерот (Araz et al., 2015, Macedo et al., 2017 и Svensson et al., 2017). Визуализација на скелетниот систем во нуклеарната медицина се изведува со сцинтиграфија на коски и позитронско-емисиона томографија (Mick et al., 2014 и Langsteger et al., 2016). Сцинтиграфија на коски најчесто се изведува со технециум-99m метил дифосфонат [^{99m}Tc]Tc-MDP, додека визуализацијата со позитронско-емисиона томографија се изведува со [¹⁸F]Натриум флуорид - [¹⁸F]NaF (Beheshti et al., 2015, Araz et al., 2015, Fonager et al., 2018, Zacho et al., 2019 и Ahuja et al., 2020). Зголемената достапност на ПЕТ/КТ-скенери и недостигот на генератори на ⁹⁹Mo-^{99m}Tc придонесоа за сè поголемата примена на ПЕТ-радиофармацевтикот [¹⁸F]Натриум флуорид (Czernin et al., 2010, Eberlein et al., 2011, Bastawrous et al., 2014 и Jadvar et al., 2015). Со комбинирање на поволните фармакокинетски карактеристики на [¹⁸F]Натриум флуорид и високите перформанси на позитронско-емисионата томографија се овозможува визуализација на метастази на скелетот со висока точност (Even-Sapir et al., 2007).

Со оглед на тоа дека во последната деценија сè поголем е клиничкиот интерес за [¹⁸F]NaF, главната цел на ова истражување беше да се развие едноставен, брз и ефикасен метод за синтеза на [¹⁸F]NaF раствор за инјекции.

Земајќи ги предвид методите за синтеза на [¹⁸F]NaF кои се објавени во литературата, во текот на истражувањето беа изведени модификации на веќе постоечки мануелни постапки за синтеза и развиен нов едноставен метод за полуавтоматска синтеза. Во текот на развојот на новиот метод беа тестирани повеќе параметри, со цел да се идентификуваат оптимални услови за синтеза и добивање на радиофармацевтик со висок принос и квалитет.

Поради специфичноста на работата со јонизирачко зрачење, а со цел да се воспостават соодветните услови за производствениот процес, почетните експерименти во рамките на овој труд беа изведени без радиоактивност. Почетните експерименти беа симулации на процесот на производство без радиоактивност, таканаречени „ладни“ производства. Најпрво беше изведена

модификацијата на китот и истиот беше инсталиран на апаратот за делење на дози. Со цел да се испита дали модификацијата на китот е компатибилна со притисокот со којшто се испорачува радиоизотопот од циклотрон, беа симулирани испораки на збогатена вода преку модифицираниот кит до шишето за отпадна вода. Беа изведени 10 успешни испораки на збогатена вода, без протекување на новите конекции. Времето на испорака на збогатената вода до шишето за отпадна вода беше константно 2 минути. Откако беше утврдено дека новите конекции на модифицираниот кит го издржуваат притисокот при испораката, следниот чекор беше дефинирање на волумен на стерилна вода за промивање, којшто исто така беше испорачана од циклотронот низ истата капилара за испорака. Мртвиот волумен на модифицираниот кит беше 2,1 mL. Волумен што може да се испорача од циклотронот е 3 mL. Беа изведени проби со една и две последователни испораки на стерилна вода. Беше заклучено дека волумен од 3 mL е доволно за промивање на китот. Потоа се продолжи со дефинирање на начинот на елуција. За елуција користевме физиолошки раствор во стерилно шише. Испорачувањето на физиолошкиот раствор беше планирано да се одвива под притисок со инертен гас. Првично, испораката беше симулирана во друг оловен кабинет, каде што имаше постоечка конекција на инертен гас азот. Откако испорачувањето под притисок беше успешно, следниот чекор беше инсталација на инертен гас азот во оловниот кабинет за делење на дози - Talia. Беа направени повеќе ладни проби за да се дефинира притисок на инертниот гас со кој ќе биде испорачан физиолошкиот раствор. Со притисок од 3 bar имавме неуспешно испорачување, односно отфрлување на иглата од шишето поради голем притисок. Беа изведени последователни намалувања на притисокот, до постигнување на потребниот притисок. Како финален притисок за испорака беше дефиниран 1,2 bar. Времетраењето на испораката на физиолошкиот раствор под притисок од азот беше 25 секунди. Останатите чекори беа идентични, како и при стандардна серија на делење на дози. По дефинирање на сите поединечни параметри успешно беа симулирани три последователни „ладни“ производства. Потоа се продолжи кон експерименталниот чекор со радиоактивност, односно производства со радиоизотоп $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$.

Процесот на производство започнува со синтеза на радиоизотоп $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$. Радиоизотопот беше произведен во циклотрон со озрачување на медиумот,

збогатената вода со кислород 18. Во текот на производството на радиоизотопот јачината на струјата и времето на озрачување беа променливи во зависност од количината на радиоактивност на $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ потребна за изведување на разни проби и истражувања. Иако произведениот радиоизотоп е веќе во форма на флуорид, тој не е соодветен за директна примена без претходно прочистување. Збогатената вода којашто се бомбардира со протони содржи радионуклидни онечистувања во зависност од метата што се користи (Avila-Rodriguez et al., 2008, Savisto et al., 2018 и Kilbourn et al., 2020). Радионуклидните онечистувања се јавуваат како резултат на можната нуклеарна реакција на забрзаните протони со метата и Navar-фолиите коишто се составен дел од метата. Нуклеарните реакции коишто имаат веројатност да се случат се (p,n), (p,d) и (p, α) (Köhler et al., 2013). Фолиите во метата најчесто се изработени од легура Navar, со висока цврстина на истегнување (1860 MPa), со висока точка на топење (1480,1 °C) и умерена топлинска спроводливост (14,7 W/m/K на 231 °C). Оваа легура е составена од Co 42 %, Cr 19,5 %, Fe 19,3 %, Ni 12,5 %, W 2,6 %, Mo 2,2 %, Mn 1,7 % и C 0,2 % (Avila-Rodriguez et al., 2008). Користењето на Navar фолија при долготрајни озрачувања доведува до формирање на радионуклидни онечистувања растворливи во вода. Радионуклидните онечистувања ја намалуваат реактивноста на радиоизотопот ^{18}F и финалниот принос на радиофармацевтскиот препарат (Kilbourn et al., 1985). Постапка за отстранување на овие радионуклидни онечистувања е апсолутно неопходна. Всушност, во Европската фармакопеја е наведено дека $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ флуорид се екстрахира од озрачената збогатена вода со адсорпција и десорпција од анјон-изменувачки кертриџ или електрохемиска депозиција и негово повторно растворање. Очигледно, методот на производство со анјон-изменувачки кертриџи е поприфатлив поради лесната достапност на анјон-изменувачките кертриџи од една страна, а од друга страна е полесно приспособлив процес за асептично ракување во оловен кабинет со ограничен простор.

Со цел да се дефинира најсоодветен тип на анјон-изменувачки кертриџ, беа изведени по 3 синтези со четирите типа на анјон-изменувачки кертриџи. Беа користени два кватернерни амониум анјон-изменувачки (QMA) кертриџи со јон за изменување хлорид (QMA-Cl⁻) и јон за изменување карбонат (QMA-CO₃²⁻) и два кертриџи со кополимер од дивинилбензен и полистирен (PS) со силни анјон-изменувачки карактеристики со јони за изменување хидроксид (PS-OH⁻) и

хидрогенкарбонат (PS-HCO_3^-). За секоја синтеза беше определен приносот на финалниот производ и истиот испитан на следниве параметри: рН-вредност, идентификација, хемиска, радиохемиска и радионуклидна чистота. Нашата споредба на овие четири анјон-изменувачки кертрици (QMA-Cl^- , QMA-CO_3^{2-} , PS-OH^- и PS-HCO_3^-) покажа дека QMA-кертриците без разлика на јонот за изменување, имаат поголема способност за екстракција и елуција на радиоизотопот $^{18}\text{F}^-$. Финалниот принос се движеше во опсег од $86,28\% \pm 1,17\%$ за QMA-Cl^- , од $88,28\% \pm 1,08\%$ за QMA-CO_3^{2-} , $79,77\% \pm 2,58\%$ за PS-OH^- , $78,51\% \pm 3,14\%$ за PS-HCO_3^- .

Освен рН-вредноста, резултатите за сите останати испитани параметри беа во рамките на соодветните критериуми на прифатливост и не се разликуваа за QMA и PS-кертриците, независно од јонот за изменување. Измерените рН-вредности на финалните производи добиени со користење на различни анјон-изменувачки кертрици се разликуваа. Само кај примероците од $^{18}\text{F}^-$ NaF подготвени со употреба на QMA-Cl^- беше измерена рН-вредност $6,5 - 7,0$ која е во рамките на критериумот на прифатливост согласно со спецификацијата. На примероците подготвени со останатите три типа на кертрици беше измерена рН-вредност над $8,0$ што е надвор од рамките на критериумот на прифатливост. рН-вредноста на овие примероци може да се коригира со дополнително додавање на физиолошки раствор. Кај примероците добиени со користење на кертриците QMA-CO_3^{2-} и PS-OH^- , рН-вредноста се намали до $7,5 - 8,0$ (во рамките на критериумот на прифатливост) по дополнително разредување со волумен од 7 mL физиолошки раствор (вкупен волумен на финален производ 15 mL). Финалните производи добиени со користење на PS-HCO_3^- не беа во рамките на критериумот на прифатливост и по разредувањето со вкупен волумен од 17 mL физиолошки раствор (вкупен волумен на финален производ 25 mL).

Следствено на добиените резултати, земајќи предвид дека е пожелно со елуцијата со физиолошки раствор да се обезбеди финален производ со рН-вредност во рамките на критериумот на прифатливост, QMA-Cl^- беше нашиот прв избор на анјон-изменувачки кертриц за производство на $^{18}\text{F}^-$ NaF во изотоничен раствор на натриум хлорид.

Добиените резултати за параметарот рН-вредност се во корелација со резултатите добиени од Као и соработниците (2010), додека во однос на финалниот принос тие добиле повисоки вредности во споредба со нашите

результати со користење на сите четири типа на анјон-изменувачки кертрици. Помалиот принос се должеше на начинот на мануелно производство, поточно заостанувањето на радиоактивност во шприцот за испорака на радиоизотопот и кертрицот.

Во литературата којашто беше прегледана постојат разни типови на методи за производство на [^{18}F]NaF радиофармацевтик со користење само на анјон-изменувачки кертриц или комбинација на катјон-изменувачки и анјон-изменувачки кертриц. (Brian et al., 2010, Choi et al., 2016 и Bratteby et al., 2021). Што се однесува до комерцијално достапните модули за синтеза, Synthera V2 (IBA, 2013) и AllInOne (AIO) (Trasis) кои имаат опција за синтеза на [^{18}F]NaF, за прочистување на радиоизотопот користат само анјон-изменувачки кертриц (Collet et al., 2015). Поради овој факт, откако беше дефиниран типот на анјон-изменувачки кертриц, беа изведени дополнително три проби за да се процени влијанието на катјон-изменувачкиот кертриц (SCX) врз квалитетот на финалниот [^{18}F]NaF радиофармацевтик. За репродуцибилност на резултатите, трите типа проби (комбинации на кертрици) беа повторени четирипати под исти услови, односно беа произведени вкупно 12 серии на [^{18}F]NaF радиофармацевтик. Влијанието на SCX-кертрицот беше анализирано врз основа на задржаната радиоактивност на QMA кертрицот, SCX-кертрицот и на отпадната вода и испитување на финалниот примерок.

Кај проба 2 (SCX + QMA) задржаната радиоактивност изразена во проценти беше најголема на SCX-кертрицот, а најмала на отпадната вода. Добиените резултати укажуваат на ефикасно задржување на катјонските онечистувања на SCX-кертрицот, кога е позициониран пред QMA-кертрицот. При обратен редослед на кертриците (QMA + SCX), забележано е помало задржување на радионуклидните онечистувања на SCX-кертрицот, бидејќи катјонските онечистувања без да бидат задржани поминуваат низ QMA-кертрицот во шишето за отпадна вода. Процентот на задржана радиоактивност на кертриците за прочистување е во корелација со резултатите кои ги добиле и Choi J.G и соработниците (2016). Тие врз основа на процентот на задржана радиоактивност на кертриците во рутинско производство користеле комбинација на катјон и анјон-изменувачки кертриц редоследно поставени.

Доколку се земе предвид само задржаната радиоактивност, тогаш можеме да заклучиме дека комбинацијата од проба 2 (SCX и QMA-кертрицот) е

најповолна за производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ радиофармацевтик. Сепак, само од процентот на задржана радиоактивност не може да се процени квалитетот на финалниот радиофармацевтик.

На финалниот производ беа испитани параметрите: рН-вредност, идентификација, хемиска, радиохемиска и радионуклидна чистота.

Резултатите добиени од испитување на параметарот приближна рН-вредност за проба 1 (QMA + SCX-кертриц) не беа во рамките на критериумот на прифатливост. Измерената приближна рН-вредност на четирите серии произведени со проба 1 беше 0,5 – 1,0 рН-единица (табела 15). Ниската рН-вредност се должеше на присуството на водородниот јон за изменување од катјон-изменувачкиот кертриц во финалниот производ. Со поминување на финалниот производ $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ низ SCX-кертрицот доаѓа до изменување на водородниот јон од кертрицот со натриумовиот катјон од радиофармацевтикот. Натриумот како катјон од физиолошкиот раствор има појака сила за елуција на водородниот јон како јон за изменување на катјон-изменувачкиот кертриц. Измерените рН-вредности за проба 2 (SCX + QMA-кертриц) и проба 3 (само QMA-кертриц) беа во критериумот на прифатливост, поточно измерената рН-вредност беше од 6,5 до 7,0 рН-единици на сите осум произведени серии (табела 8).

Идентификацијата на радиоизотопот беше потврдена со мерење на периодот на полураспаѓање и со споредба на ретенционите времиња на главниот пик на радиохроматограмот на испитуваниот примерок и ретенционото време на главниот пик од хроматограмот на стандардниот раствор од NaF добиен со кондуктометрискиот детектор (табели 16 и 17).

При анализирање на радиохроматограмите добиени од испитување на параметарот радиохемиска чистота (слики 35 - 38) освен пикот од флуорид не беше детектиран друг пик. Радиохемиската чистота на тестираните примероци од трите проби беше 100 %, што е во согласност со критериумот на прифатливост повеќе од 98,5 % од вкупната радиоактивност да потекнува од флуорид $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$.

Радионуклидните онечистувања присутни во финалниот производ треба да бидат помалку од 0,1 % (10^{-1} %) од вкупната почетна радиоактивност во референтно време. Резултатите од испитувањето на радионуклидна чистота на финалниот радиофармацевтик беа во рамките на критериумот на

прифатливост. Најмалку радионуклидни онечистувања во финалниот примерок имаше во сериите произведени со проба 2, од редот на 10^{-6} %. Резултатите од проба 1 и проба 3 беа од редот на 10^{-5} %, односно присутните радионуклидни онечистувања во овие проби беа за десет пати поголеми во споредба со проба 2. Спектрите од радионуклидната чистота добиени од финалните примероци за проба 1 и проба 3 се слични поради поставеноста на катјон-изменувачкиот кертриџ. Најголем дел од радионуклидните онечистувања се во катјонска форма и како такви поминуваат низ анјон-изменувачкиот кертриџ.

Покрај испитување на радионуклидната чистота на финалниот производ, беше испитано и присуството на радионуклидни онечистувања во отпадната вода.

При анализирање на гама-спектрите на отпадната вода во примероците од проба 1 и проба 3 беа идентификувани пикови од ^{54}Mn (834,8 keV), ^{52}Mn (1434 keV), ^{56}Co (846,7 keV), ^{57}Co (122,06 keV), ^{58}Co (810,76 keV) и ^{57}Ni (1377,63 keV) (слика 40, 44, 46, 50, 52, 56, 58 и 62). Со анализирање на гама-спектрите од отпадната вода на проба 2 (SCX + QMA кертриџи) не беа детектирани пикови од ^{52}Mn , ^{54}Mn , ^{56}Co , ^{57}Co како катјонски радионуклидни онечистувања. Радионуклидите $^{52,54}\text{Mn}$, $^{56,57,58}\text{Co}$, ^{57}Ni како катјонски онечистувања ефикасно беа задржани на SCX-кертриџот, што е во согласност со добиените резултати од процентот на задржана радиоактивност на SCX-кертриџот ($6,252 \pm 1,712$ %) (табела 14).

Во проба 2, каде што SCX-кертриџот беше поставен пред QMA кертриџот, процентот на радионуклидните онечистувања во отпадната вода беше помал ($8,17 \times 10^{-4}$ %) во споредба со проба 1 и проба 3 ($1,35 \times 10^{-3}$ %, $9,19 \times 10^{-4}$ %). Добиените резултати беа во критериумот на прифатливост за параметарот радионуклидна чистота на финалниот производ. Резултатите укажуваат дека произведениот радиоизотоп од циклотрон со користење на сет од мета од ниобиум со Navar фолија е со многу висока радионуклидна чистота, поточно присутните радионуклидни онечистувања се во многу низок процент.

При анализа на резултатите од сите параметри од трите проби, проба 1 беше елиминирана поради отстапување од рамките на критериумот на прифатливост за параметарот приближна pH вредност. Помеѓу проба 2 и проба 3 имаше незначителни разлики само во резултатите за параметарот радионуклидна чистота ($8,04 \times 10^{-4}$ % и $1,34 \times 10^{-4}$ %, соодветно).

Радионуклидните онечистувања на финалниот примерок од проба 3 изразени во проценти беа од редот на 10^{-5} , што е за десет илјади пати (10^4) помалку од дефинираниот критериум на прифатливост (10^{-1} %). Со оглед на тоа, како оптимален избор за понатамошните производства и анализи беше користен само анјон-изменувачки кертриџ.

Еден од важните чекори при производство на радиофармацевтски препарати е успешна елуција на задржаниот радиоизотоп во дадената хемиска форма. Ефикасноста на елуцијата директно влијае на приносот на финалниот производ (Bratteby et al., 2021). За дефинирање на волумен на физиолошки раствор за елуција на задржаниот радиоактивен флуорид беа изведени полуавтоматски и мануелни производства.

Добиените резултати од полуавтоматските производства потврдуваат дека волумен од 5 mL физиолошки раствор е доволен за ефикасна елуција на повеќе од 99 % од радиоактивноста која потекнува од $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$. Радиоактивноста која беше дополнително елуирана со втора елуција не влијаеше значително на финалниот принос. Дополнителната елуирана радиоактивност изразена во проценти со втората елуција беше 0,1424 %. Користењето на поголем волумен за елуција ја намалува почетната радиоактивна концентрација на финалниот производ и може да го разреди примерокот под поставената целна концентрација. Резултатите добиени при изведба на мануелните серии, соодветствуваат со резултатите добиени од полуавтоматски произведените серии. Во мануелните производства беше забележано поголемо задржување на радиоактивност на кертриџот во споредба со полуавтоматските синтези, но сепак процентот на задржана радиоактивност не беше поголем од 1,7 % (табела 22). Оваа разлика во ефикасноста на елуирање се должеше на поефикасното сушење на кертриџот со инертен гас при автоматските синтези. При мануелните синтези по елуирање, кертриџот се суши со 10 mL воздух, поради тоа постои можност од заостанување на минимална количина на физиолошки раствор во кертриџот, што пак директно влијае на задржаната радиоактивност на кертриџот. Врз основа на процентот на задржана радиоактивност на QMA-кертриџот и финалниот принос, волумен од 5 mL физиолошки раствор беше избран како најсоодветен волумен за елуција во производствениот процес.

Откако беа дефинирани условите во производствениот процес (типот на кертриџ што ќе се користи, волуменот на промивање и волуменот на елуција)

беше продолжено со валидација на процедурата на чистење и асептична валидација на процесот на производство.

Валидација на постапката за чистење е од исклучителна важност за да се елиминира контаминација на финалниот производ од опремата, средства за чистење или од други финални производи (PIC/S Guide PI 006-3, 2007). Во зависност од финалниот производ, типот на опрема и процесот на производство се дизајнира протокол за валидација на процесот на чистење (APIC, 2016 и Khan et al., 2020). За валидацијата на постапката за чистење беа земени примероци со промивање од капиларата за испорака и брис од надворешната површина на апаратот за делење на дози. Резултатите добиени од примероци со промивање и земање на брис од контактна површина потврдија дека постапката за чистење е ефикасна (табели 23 и 24). Капиларата за испорака на произведениот радиоизотоп се одржува микробиолошки чиста. Последниот примерок од промивање на капиларата за испорака беше земен два дена по извршувањето на последното чистење на линијата за испорака, како најлошо сценарио. Трите анализирани примероци од промивање беа стерилни и резултатите за ендотоксини беа $< 5,0 \text{ IU/mL}$, што е во рамките на критериумот на прифатливост. Примероците од површина (брис) на апаратот за делење на дози, исто така, беа без микробиолошки раст.

Откако беше потврдена успешноста на постапката за чистење со валидација на истата, во следниот чекор беше дизајнирана и изведена асептична валидација на процесот на производство.

Радиофармацевтските препарати поради краткиот период на полураспаѓање на радионуклидот може да се одобрат за употреба пред да се завршат сите тестови за проверка на квалитетот (EudraLex Annex 3, 2008). Тестовите како што се стерилност, определување на концентрацијата на ендотоксини и радионуклидната чистота се изведуваат по одобрување на серијата за употреба. Оттука примената на асептична валидација пред да се имплементира нов радиофармацевтски препарат е од суштинско значење за да се минимизираат можните ризици за квалитетот што не може да се идентификуваат преку тестирањето на параметрите пред одобрување на серијата за употреба односно за инјектирање на пациенти (WHO Technical Report Series 1025 -Annex 2, 2020). Асептичната валидација беше изведена во согласност со водичите за асептична валидација (PIC/S PI 007-6

Recommendation on the validation of aseptic processes) (PIC/S PI 007-6, 2011). Медиумот кој поддржува раст беше избран врз основа на критериумите дефинирани во препораките за асептична валидација. Користениот медиум треба да поддржува раст на широк спектар на микроорганизми, да поддржува раст на многу ниски концентрации на бактерии од 10 до 100 CFU/единици или помалку, да биде бистар за да се овозможи лесна детекција на заматеност. Доколку во асептичното производство се користи филтер, медиумот треба да се филтрира низ истиот (PIC/S Guide PI 007-6; 2011). Како соодветен медиум за изведба на асептичната валидација беше избран течен медиум од мешавина на пептони (Tryptic Soy Broth). Медиумот беше тестиран со тест за промоција на раст на микроорганизми според фармакопејска метода Ph. Eur. 2.6.1 Sterility (Ph. Eur. 10.0, 04/2011:20601, 2020). Добиените резултати покажаа јасно видлив раст, односно заматен бујон при инкубација на медиумот со аеробни бактерии (*Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Bacillus subtilis* ATC6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027), анаеробни бактерии (*Clostridium sporogenes* ATCC19404) и габи и мувла (*Candida albicans* ATCC10231 и *Aspergillus niger* ATCC16404). Добиениот резултат одговараше на прописите за GPT според Европската фармакопеја.

За да се одреди микробиолошката оптовареност на системот пред финална стерилизација и да се проценат капацитетот и ефикасноста на филтерот, најпрво беа изведени три серии на биобурден. Во секоја серија десет примероци беа тестирани за биобурден и еден примерок беше тестиран за бактериски ендотоксини. Тестираните биобурден примероци беа без микробиолошки раст, односно беа стерилни. Резултатот од примерокот тестиран за бактериски ендотоксини беше помалку од 5,0 IU/mL, што е во рамките на критериумот на прифатливост. Резултатите покажаа дека асептичното работење е ефикасно и во целокупниот произведен процес нема микробиолошко загадување. Радиоактивноста со која се работи во рутински процес на производство се смета за неповолна средина за раст на микроорганизми (Gillings et al., 2021). Симулирање на асептичниот процес на производство, без радиоактивност и без финален филтер за стерилизација, беше најлошо сценарио, во коешто се докажа дека во ниту еден чекор нема микробиолошко загадување. По добивање на резултатите од биобурден тестовите, со кои се потврди дека тестираните примероци се стерилни, се

пристапи кон вториот дел од асептичната валидација, односно изведување на Media fill тестот. Производствениот процес беше симулиран со медиумот кој поддржува раст на микроорганизми (Media fill), којшто претходно беше тестиран. Од трите серии, беа тестирани вкупно 33 примероци, од кои 30 примерока за стерилност и 3 примерока за бактериски ендотоксини. Сите примероци беа стерилни. Бактериските ендотоксини беа во рамките на критериумот на прифатливост и тоа 6,74 IU/mL, 7,21 IU/mL и помалку од 5,00 IU/mL за првата, втората и третата серија последователно. Резултатите од тестот за интегритет на филтер за трите серии, ја потврдија ефикасноста на филтерот за финална стерилизација.

Резултатите од микробиолошкиот мониторинг беа во критериумите на прифатливост. Критериумите на прифатливост за таложни плочи според EudraLex - Volume 4, Annex 1 за класа-A е без раст на микроорганизми, класа-B е помалку од 5 CFU/4 часа и за класа-C е помалку од 50 CFU/4 часа (PIC/S Guide PE 009-16; Annex 1, 2022). Таложните плочи кои беа поставени во преткомората на оловниот кабинет (класа-B), каде што се вршат подготовките на материјалите потребни за производство /асептична валидација, беа без микробиолошки раст. Резултатите од таложните плочи кои беа поставени во комората на оловниот кабинет класа-A, каде што се одвива асептичниот процес на делење на дози ја потврдија ефикасноста на асептичната работа, односно на ниту една плоча немаше раст на бактерии. Резултатите од отпечатоци од прсти на ракавиците исто така на операторите не покажаа раст на микроорганизми. Резултатите од микробиолошки мониторинг на лабораторијата (класа-C) каде што е инсталиран оловниот кабинет (позиција П11), покажа раст на една колонија на *Staphylococcus coagulase-negative* (1 CFU/4 часа). *Staphylococcus coagulase-negative* е непатогена бактерија којашто претставува дел од нормалната бактериска флора на кожата и слuzницата на луѓето и животните (Becker et al., 2014). Според Волумен 4, Упатството за добрата производна пракса за медицински производи за хумана и ветеринарна употреба, Анекс 1 за производство на стерилни фармацевтски препарати, за време на асептичната работа во класа-A, задолжителен е мониторинг на бројот на честички. Критериумот на прифатливост за класа-A е 3520 честички/m³ за честички со големина 0,5 µm и 20 честички/m³ за честички со големина 5 µm. Со бројач на честички беше изведено континуирано мерење на концентрацијата на честички

за време на целиот асептичен процес на производство. Резултатите од физичкиот мониторинг од шесте изведени серии на асептична валидација беа во критериумот на прифатливост.

Добиените резултатите од трите серии – биобурден тест и трите серии – media fill тест го потврдија асептичниот процес на производство. Во текот на валидационите тестови не беа забележани неусогласености. Сите резултати од микробиолошките анализи и тестовите за присуство на бактериски ендотоксини беа во рамките на дозволените гранични вредности. Од добиените резултати се заклучува дека асептичниот процес на производство на [^{18}F]Натриум флуорид раствор за инјекции е валидиран и може да биде користен за рутинско производство за пациенти.

Откако процесот беше валидиран, со цел да се испита стабилноста на финалниот производ во текот на времето, беше дизајнирана и изведена студија на стабилност. Целта на студијата на стабилност е да се обезбедат докази за тоа како квалитетот на лекот или активната супстанција варира со текот на времето под влијание на различни фактори од животната средина, како што се температурата, влажноста и светлината, да се воспостави период на повторно тестирање за супстанцијата или да се дефинира рокот на траење на лекот и препорачаните услови за складирање (ICH, Q1A(R2), 2003). Стерилен раствор кој содржи [^{18}F]F⁻ во форма на Натриум флуорид (Ph. Eur. 10, 01/2008:2100, 2020) е неорганска сол позната како едно од најстабилните хемиски соединенија, па затоа не се очекуваат хемиски промени во текот на дефинираниот временски период на тестирање (МААЕ, 2016). Рокот на употреба на производот не може да надмине 5 периода на полураспаѓање на радионуклидот, поради што студијата за стабилност беше ограничена на 10 часа (МААЕ, 2016). За изведба на студијата на стабилност беа произведени три серии на кои им беше испитана стабилноста во текот на предложениот рок на траење. Во текот на производството не беа забележани никакви отстапувања од производната процедура. Добиените резултати од физичкиот мониторинг спроведен за време на производствениот процес беа во критериумот на прифатливост за класа А (слики 68 - 70). Откако беа наполнети примероците креирани во серијата, беше изведен тест за интегритет на филтер (анг. Bubble point test - BPT), задолжителен тест за докажување на ефикасноста на 0,22 μm филтер за стерилизација. Добиените вредности го потврдија интегритетот на филтерот (слики 71, 72, 73).

Во табела 42 се прикажани збирните резултати од тестираните параметри дефинирани во спецификацијата на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ од трите тестирани серии во студијата на стабилност. Параметрите за одредување на квалитетот беа тестирани според дефинираната фреквенција на тестирање. Добиените резултати од тестираните параметри беа во критериумот на прифатливост во сите тестирани точки. Идентификацијата на радиоизотопот беше изведена во првата и последната дефинирана точка. На радиохроматограмите од трите серии во сите тестирани точки беше идентификуван само еден пик (слики 80, 81, 82). Идентификуваниот пик потекнува од флуорид ($[^{18}\text{F}]\text{F}^-$), што беше потврдено преку споредба на ретенционите времиња на стандардот (кондуктометриски детектор) и примерокот. Радиохемиската, хемиската чистота и рН-вредноста беа тестирани на секои два часа во тек од 10 часа. Со оглед на тоа дека беше идентификуван само еден пик од $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ на радиохроматограмот, радиохемиската чистота беше 100 % во сите тестирани примероци. Површината на пикот се намалуваше во секоја следна тестирана точка, што се должеше на радиоактивниот распад на радиоизотопот. При испитување на хемиската чистота не беше детектирана количина на нерадиоактивен флуорид. Измерената приближна рН-вредност беше 6,5 – 7,0. Радиохемиската чистота, хемиската чистота и рН-вредноста беа стабилни, односно не беше забележана хемиска декомпозиција во дефинираниот рок на употреба. Асептичниот процес беше потврден со резултатите од испитување на параметрите: бактериски ендотоксини и стерилност. Резултатите од бактериски ендотоксини беа под 5 IU/mL во трите тестирани точки за трите серии.

Од податоците за стабилноста, врз основа на тестирање на три серии од $[^{18}\text{F}]\text{Натриум флуорид}$ радиофармацевтски производ, рокот на траење беше утврден на 10 часа, кога се чува на контролирана собна температура од 18 до 22 °C.

Резултатите од сите тестирани параметри потврдија дека $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ раствор за инјектирање, како неорганска сол, е стабилен и не е забележана декомпозиција во текот на дефинираниот временски рок на употреба.

7. ЗАКЛУЧОК

Од досегашните спроведени истражувања и врз основа на добиените резултати кои се во согласност со поставените цели, можеме да заклучиме дека:

- новиот метод за производство на [^{18}F]NaF раствор за инјектирање беше успешно воведен исполнувајќи три важни критериуми:
 - користење на стерилни потрошни материјали за еднократна употреба со ниска цена;
 - модификацијата ги задоволува барањата за асептична работа и процесот лесно се управува со софтвер;
 - квалитетот на произведениот [^{18}F]NaF раствор за инјекции ги исполнува барањата на монографијата во Европската фармакопеја.

Во текот на развојот на новиот метод беа дефинирани најповолните параметри за добивање на стабилен процес на производство, кој ќе може ефикасно и репродуктивно да произведе [^{18}F]NaF радиофармацевтик, кој ги задоволува критериумите дефинирани во спецификацијата за квалитет.

Сите критични параметри кои влијаат на квалитетот на готовиот производ беа дефинирани:

- тип на анјон-изменувачки кертриџ - како најповолен тип на анјон-изменувачки кертриџ беше избран кватернерен амониум анјон-изменувачки кертриџ со јон за изменување хлорид;
- дополнително користење на катјон-изменувачки кертриџ не влијае на квалитетот на финалниот производ;
- волумен на елуција од 5 mL е доволен за успешна елуција на задржаниот радиоизотоп на анјон-изменувачкиот кертриџ.

По дефинирање на критичните параметри успешно беше спроведена:

- валидацијата на постапката на чистење;
- асептичната валидација на процесот на [^{18}F]NaF радиофармацевтското производство. Резултатите од анализираните примероци, вклучувајќи ги резултатите од микробиолошкиот и физичкиот мониторинг, извршени за време на валидацијата, го потврдија асептичниот процес на производство на [^{18}F]Натриум флуорид. Докажано е дека дури и во најлошото сценарио

нема микробиолошки раст за време на процесите на синтеза и делење, и двете изведени под асептични услови;

- со добиените резултати од студијата на стабилност се потврди дека $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ раствор за инјекции ги задоволува критериумите на прифатливост за квалитет дефинирани во спецификацијата и по 10 часа од крај на синтеза, како дефиниран рок на употреба. Од податоците за стабилноста, врз основа на тестирање на три серии од $[^{18}\text{F}]\text{Натриум флуорид}$ радиофармацевтски производ, рокот на траење беше утврден на 10 часа, кога се чува на контролирана собна температура од 18 до 22 °C.

Понатамошните испитувања ќе бидат насочени кон изведување на процес на валидација на новоразвиениот метод за производство на $[^{18}\text{F}]\text{NaF}$ и воведување на новиот произведен процес за рутинска употреба кај пациенти во Универзитетски институт за позитронско-емисиона томографија – Скопје.

8. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

- Aerts, J., Ballinger, J. R., Behe, M., Decristoforo, C., Elsinga, P. H., Faivre-Chauvet, A., Mindt, T. L., Kolenc Peitl, P., Todde, S. C., Kozirowski, J., & European Association of Nuclear Medicine (2014). Guidance on current good radiopharmacy practice for the small-scale preparation of radiopharmaceuticals using automated modules: a European perspective. *Journal of labelled compounds & radiopharmaceuticals*, 57(10), 615–620.
- Ahuja, K., Sotoudeh, H., Galgano, S. J., Singh, R., Gupta, N., Gaddamanugu, S., & Choudhary, G. (2020). 18F-Sodium Fluoride PET: History, Technical Feasibility, Mechanism of Action, Normal Biodistribution, and Diagnostic Performance in Bone Metastasis Detection Compared with Other Imaging Modalities. *Journal of nuclear medicine technology*, 48(1), 9–16.
- Ametamey, S. M., Honer, M., & Schubiger, P. A. (2008). Molecular imaging with PET. *Chemical reviews*, 108(5), 1501–1516.
- Andrews, J. P. M., MacNaught, G., Moss, A. J., Doris, M. K., Pawade, T., Adamson, P. D., van Beek, E. J. R., Lucatelli, C., Lassen, M. L., Robson, P. M., Fayad, Z. A., Kwiecinski, J., Slomka, P. J., Berman, D. S., Newby, D. E., & Dweck, M. R. (2021). Cardiovascular 18F-fluoride positron emission tomography-magnetic resonance imaging: A comparison study. *Journal of nuclear cardiology : official publication of the American Society of Nuclear Cardiology*, 28(5), 1–12.
- APIC - ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS COMMITTEE (2016). Guidance on aspects of cleaning validation in active pharmaceutical ingredient plants.
- Araz, M., Aras, G., & Küçük, Ö. N. (2015). The role of 18F-NaF PET/CT in metastatic bone disease. *Journal of bone oncology*, 4(3), 92–97.
- Avila-Rodriguez, M. A., Jalilian, A. R., Korde, A., Schlyer, D., Haji-Saeid, M., Paez, J., & Perez-Pijuan, S. (2022). Current status on cyclotron facilities and related infrastructure supporting PET applications in Latin America and the Caribbean. *EJNMMI radiopharmacy and chemistry*, 7(1), 14.
- Avila-Rodriguez, M. A., Wilson, J. S., & McQuarrie, S. A. (2008). A quantitative and comparative study of radionuclidic and chemical impurities in water samples irradiated in a niobium target with Havar vs. niobium-sputtered Havar as entrance foils. *Applied radiation and isotopes : including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine*, 66(12), 1775–1780.

- Ballinger, J. R. (2010). Short- and long-term responses to molybdenum-99 shortages in nuclear medicine. *The British journal of radiology*, 83(995), 899–901.
- Bastawrous, S., Bhargava, P., Behnia, F., Djang, D. S., & Haseley, D. R. (2014). Newer PET application with an old tracer: role of ^{18}F -NaF skeletal PET/CT in oncologic practice. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*, 34(5), 1295–1316.
- Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014). Coagulase-negative staphylococci. *Clinical microbiology reviews*, 27(4), 870–926.
- Beheshti, M., Mottaghy, F. M., Paycha, F., Behrendt, F. F. F., Van den Wyngaert, T., Fogelman, I., Strobel, K., Celli, M., Fanti, S., Giammarile, F., Krause, B., & Langsteger, W. (2015). ^{18}F -NaF PET/CT: EANM procedure guidelines for bone imaging. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 42(11), 1767–1777.
- Blake, G. M., Park-Holohan, S. J., Cook, G. J., & Fogelman, I. (2001). Quantitative studies of bone with the use of ^{18}F -fluoride and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -methylene diphosphonate. *Seminars in nuclear medicine*, 31(1), 28–49.
- Blau, M., Ganatra, R., & Bender, M. A. (1972). ^{18}F -fluoride for bone imaging. *Seminars in nuclear medicine*, 2(1), 31–37.
- Blau, M., Nagler, W., & Bender, M. A. (1962). Fluorine-18: a new isotope for bone scanning. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 3, 332–334.
- Boschi, S., Lodi, F., Malizia, C., Cicoria, G., & Marengo, M. (2013). Automation synthesis modules review. *Applied radiation and isotopes: including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine*, 76, 38–45.
- Bratteby, K., Shalgunov, V., Battisti, U. M., Petersen, I. N., van den Broek, S. L., Ohlsson, T., Gillings, N., Erlandsson, M., & Herth, M. M. (2021). Insights into Elution of Anion Exchange Cartridges: Opening the Path toward Aliphatic ^{18}F -Radiolabeling of Base-Sensitive Tracers. *ACS pharmacology & translational science*, 4(5), 1556–1566.
- Bruton, L., and Scott, J.H.P. (2021). *Handbook of Radiopharmaceuticals: methodology and applications* Chapter 13: Automated Synthesis Modules for PET Radiochemistry 437.

- CDER, (2012). U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research Guidance Media Fills for Validation of Aseptic Preparations for Positron Emission Tomography (PET) Drugs.
- Choi, J.Y., Lee, J.W., Lee, K., Kim, K., Seo, Y.B., Kim, J.Y., & Ryu, Y.H. (2016). Time and cost effective production of sodium [¹⁸F]fluoride using a dedicated automation module with disposable cassettes for GMP environment. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 309, 983-987.
- Coady, C. M., & Micheli, L. J. (1997). Stress fractures in the pediatric athlete. *Clinics in sports medicine*, 16(2), 225–238.
- Coleman, R.E., (1997). Skeletal complications of malignancy. *Cancer*. Oct 15;80(8 Suppl):1588-94.
- Coleman, R.E., (2001). Metastatic bone disease: clinical features, pathophysiology and treatment strategies. *Cancer Treat Rev*. Jun;27(3):165-76
- Coleman, R.E., (2006). Clinical features of metastatic bone disease and risk of skeletal morbidity. *Clin Cancer Res*. Oct 15;12(20 Pt 2):6243s-6249s.
- Collet, C., Otabashi, M., Giacomelli, F., Veran, N., Karcher, G., Chapleur, Y., & Lamandé-Langle, S. (2015). Fully automated production of sodium [(¹⁸F)]fluoride on AllInOne and miniAllInOne synthesizers. *Applied radiation and isotopes: including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine*, 102, 87–92.
- Cook G. J. (2013). Combined ¹⁸F-Fluoride and ¹⁸F-FDG PET/CT scanning for evaluation of malignancy: results of an international multicenter trial. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 54(2), 173–175.
- Cook, G., & Goh, V. (2020). Molecular Imaging of Bone Metastases and Their Response to Therapy. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 61(6), 799–806.
- Creager, M. D., Hohl, T., Hutcheson, J. D., Moss, A. J., Schlotter, F., Blaser, M. C., Park, M. A., Lee, L. H., Singh, S. A., Alcaide-Corral, C. J., Tavares, A. A. S., Newby, D. E., Kijewski, M. F., Aikawa, M., Di Carli, M., Dweck, M. R., & Aikawa, E. (2019). ¹⁸F-Fluoride Signal Amplification Identifies Microcalcifications Associated With Atherosclerotic Plaque Instability in Positron Emission

- Tomography/Computed Tomography Images. *Circulation. Cardiovascular imaging*, 12(1), e007835.
- Czernin, J., Satyamurthy, N., & Schiepers, C. (2010). Molecular mechanisms of bone ¹⁸F-NaF deposition. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 51(12), 1826–1829.
- Doris, M. K., Meah, M. N., Moss, A. J., Andrews, J. P. M., Bing, R., Gillen, R., Weir, N., Syed, M., Daghem, M., Shah, A., Williams, M. C., van Beek, E. J. R., Forsyth, L., Dey, D., Slomka, P. J., Dweck, M. R., Newby, D. E., & Adamson, P. D. (2020). Coronary ¹⁸F-Fluoride Uptake and Progression of Coronary Artery Calcification. *Circulation. Cardiovascular imaging*, 13(12), e011438.
- Eberlein, U., Bröer, J. H., Vandevoorde, C., Santos, P., Bardiès, M., Bacher, K., Nosske, D., & Lassmann, M. (2011). Biokinetics and dosimetry of commonly used radiopharmaceuticals in diagnostic nuclear medicine - a review. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 38(12), 2269–2281.
- Elsinga, P., Todde, S., Penuelas, I., Meyer, G., Farstad, B., Faivre-Chauvet, A., Mikolajczak, R., Westera, G., Gmeiner-Stopar, T., Decristoforo, C., & Radiopharmacy Committee of the EANM (2010). Guidance on current good radiopharmacy practice (cGRPP) for the small-scale preparation of radiopharmaceuticals. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 37(5), 1049–1062.
- European Medicines Agency (EMA) EMA/CHMP/SWP/686140/2018 (2018). Guideline on the non-clinical requirements for radiopharmaceuticals.
- European Medicines Agency (EMA), EMEA/CHMP/QWP/306970/2007 (2008). - Guideline on radiopharmaceuticals.
- European Pharmacopoeia 10.0 th ed., (2020). General monographs, Residual solvents (07/2018:50400), Strasbourg: Council of Europe.
- European Pharmacopoeia 10.0 th ed., (2020). General monographs, Bacterial endotoxins (01/2018:20614), Strasbourg: Council of Europe.
- European Pharmacopoeia 10.0 th ed., (2020). General monographs, Biological tests -2.6.1 Sterility (04/2011:20601), Strasbourg: Council of Europe.
- European Pharmacopoeia 10.0 th ed., (2020). General monographs, Detection and measurement of radioactivity (01/2014:20266), Strasbourg: Council of Europe.
- European Pharmacopoeia 10.0 th ed., (2020). General monographs, Methods of preparation of sterile products (07/2017:50101), Strasbourg: Council of Europe.

- European Pharmacopoeia 10.0 th ed., (2020). General monographs, Parenteral preparations (04/2015:0520), Strasbourg: Council of Europe.
- European Pharmacopoeia 10.0 th ed., (2020). General monographs, Radiopharmaceutical Preparations (07/2016:0125), Strasbourg: Council of Europe.
- European Pharmacopoeia 10.0 th ed., (2020). Monograph no. 2100 „Sodium Fluoride (¹⁸F) injection“ (01/2008:2100), Strasbourg: Council of Europe.
- European Union, EudraLex: The Rules Governing Medicinal Products in the European Union, (2008). Volume 4, EU Guidelines to Good Manufacturing Practice, Medicinal Products for Human and Veterinary Use, Annex 3: Manufacture of Radiopharmaceuticals.
- European Union, EudraLex: The Rules Governing Medicinal Products in the European Union, (2022). Volume 4 EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products (corrected version).
- European Union, EudraLex: The Rules Governing Medicinal Products in the European Union, (2015). Volume 4 EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use Annex 15 Qualification and Validation.
- Even-Sapir, E., Metser, U., Mishani, E., Lievshitz, G., Lerman, H., & Leibovitch, I. (2006). The detection of bone metastases in patients with high-risk prostate cancer: 99mTc-MDP Planar bone scintigraphy, single- and multi-field-of-view SPECT, 18F-fluoride PET, and 18F-fluoride PET/CT. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 47(2), 287–297.
- Fersing, C.; Deshayes, E.; Langlet, S.; Calas, L.; Lisowski, V.; & Kotzki, P. O., (2021). Implementation and validation of an in-house combined fluorescein/media-fill test to qualify radiopharmacy operators. *EJNMMI radiopharmacy and chemistry*. 6(1), 2..
- Fogelman, I., Cook, G., Israel, O., & Van der Wall, H. (2005). Positron emission tomography and bone metastases. *Seminars in nuclear medicine*, 35(2), 135–142.
- Fonager, R. F., Zacho, H. D., Langkilde, N. C., Fledelius, J., Ejlersen, J. A., Hendel, H. W., Haarmark, C., Moe, M., Mortensen, J. C., Jochumsen, M. R., & Petersen, L. J. (2018). Prospective comparative study of 18F-sodium fluoride PET/CT and

- planar bone scintigraphy for treatment response assessment of bone metastases in patients with prostate cancer. *Acta oncologica* (Stockholm, Sweden), 57(8), 1063–1069.
- Fornetti, J., Welm, A. L., & Stewart, S. A. (2018). Understanding the Bone in Cancer Metastasis. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 33(12), 2099–2113.
- Gambhir, S.S., (2002). Molecular imaging of cancer with positron emission tomography. *Nat. Rev. Cancer* 2, 683.
- Geersing, T. H., Franssen, E. J. F., Pilesi, F., & Crul, M. (2019). Microbiological performance of a robotic system for aseptic compounding of cytostatic drugs. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 130, 181–185.
- Gillings, N., Hjelstuen, O., Ballinger, J., Behe, M., Decristoforo, C., Elsinga, P., Ferrari, V., Peitl, P. K., Kozirowski, J., Laverman, P., Mindt, T. L., Neels, O., Ocak, M., Patt, M., & Todde, S. (2021). Guideline on current good radiopharmacy practice (cGRPP) for the small-scale preparation of radiopharmaceuticals. *EJNMMI radiopharmacy and chemistry*, 6(1), 8.
- Gonzalez-Galofre, Z.N., Alcaide-Corral, C.J. & Tavares, A.A.S. (2021). Effects of administration route on uptake kinetics of ¹⁸F-sodium fluoride positron emission tomography in mice. *Sci Rep* 11, 5512
- Grant, F. D., Fahey, F. H., Packard, A. B., Davis, R. T., Alavi, A., & Treves, S. T., (2008). Skeletal PET with ¹⁸F-fluoride: Applying new technology to an old tracer. *Journal of Nuclear Medicine*. 9:68–78.
- Hage, W. D., Aboulafia, A. J., & Aboulafia, D. M. (2000). Incidence, location, and diagnostic evaluation of metastatic bone disease. *The Orthopedic clinics of North America*, 31(4), 515–vii.
- Hawkins, R. A., Choi, Y., Huang, S. C., Hoh, C. K., Dahlbom, M., Schiepers, C., Satyamurthy, N., Barrio, J. R., & Phelps, M. E. (1992). Evaluation of the skeletal kinetics of fluorine-18-fluoride ion with PET. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 33(5), 633–642.
- Hillner, B. E., Siegel, B. A., Hanna, L., Duan, F., Shields, A. F., Quinn, B., & Coleman, R. E. (2014). Impact of (¹⁸F)-Fluoride PET on Intended Management of Patients with Cancers Other Than Prostate Cancer: Results from the National Oncologic

- PET Registry. *Journal of nuclear medicine* : official publication, Society of Nuclear Medicine, 55(7), 1054–1061.
- Hockley, B. G., & Scott, P. J. (2010). An automated method for preparation of [(18)F]sodium fluoride for injection, USP to address the technetium-99m isotope shortage. *Applied radiation and isotopes : including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine*, 68(1), 117–119.
- http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0018/123075/AQG2ndEd_6_5Fluorides.PDF, (2000) WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark.
- https://www.whocc.no/atc_ddd_index/?code=V09IX06 пристапено на 30.10.2021.
- Iagaru, A., Mitra, E., Dick, D. W., & Gambhir, S. S. (2012). Prospective evaluation of (99m)Tc MDP scintigraphy, (18)F NaF PET/CT, and (18)F FDG PET/CT for detection of skeletal metastases. *Molecular imaging and biology*, 14(2), 252–259.
- IBA, (2013). Synthera®NaF System Application Guide.
- ICH Topic Q 1 A (R2), (2003). Stability Testing of new Drug Substances and Products.
- International Atomic Energy Agency, (2004). Radioisotope Handling Facilities and Automation of Radioisotope Production, IAEA-TECDOC-1430, IAEA, Vienna.
- International Atomic Energy Agency, (2005). Applying radiation safety standards in nuclear medicine, Safety Reports Series No. 40.
- International Atomic Energy Agency, (2009). Cyclotron Produced Radionuclides: Guidelines for Setting up a Facility, Technical Reports Series No. 471, IAEA, Vienna.
- International Atomic Energy Agency, (2012). Cyclotron produced radionuclides: guidance on facility design and production of [18F]Fluorodeoxyglucose (FDG), IAEA, Vienna.
- International atomic energy agency, (2016). Good practice for introducing radiopharmaceuticals for clinical use iaea-tecdoc-1782, IAEA, Vienna
- Irkle, A., Vesey, A. T., Lewis, D. Y., Skepper, J. N., Bird, J. L., Dweck, M. R., Joshi, F. R., Gallagher, F. A., Warburton, E. A., Bennett, M. R., Brindle, K. M., Newby, D. E., Rudd, J. H., & Davenport, A. P. (2015). Identifying active vascular microcalcification by (18)F-sodium fluoride positron emission tomography. *Nature communications*, 6, 7495.

- Isologic Innovative Pharmaceuticals Ltd., (2014). Product monograph NaF PLus, Sodium Fluoride [^{18}F] Injection, U.S.P. Parenteral Solution, Diagnostic Radiopharmaceutical.
- Jabeen, N., Rasheed, R., Rafique, A., & Murtaza, G. (2019). The Established Nuclear Medicine Modalities for Imaging of Bone Metastases. *Current medical imaging reviews*, 15(9), 819–830.
- Jacobson, M. S., Hung, J. C., Mays, T. L., & Mullan, B. P. (2002). The planning and design of a new PET radiochemistry facility. *Molecular imaging and biology*, 4(2), 119–127.
- Jacobson, M.S., Steichen, R.A., Peller, P.J. (2012). PET Radiochemistry and Radiopharmacy. In: Peller, P., Subramaniam, R., Guermazi, A. (eds) PET-CT and PET-MRI in Oncology. *Medical Radiology*(). Springer, Berlin, Heidelberg
- Jadvar, H., Desai, B., & Conti, P. S. (2015). Sodium ^{18}F -fluoride PET/CT of bone, joint, and other disorders. *Seminars in nuclear medicine*, 45(1), 58–65.
- Kairemo, K., and Macapinlac, H.A., (2020). Sodium Fluoride PET/CT in Clinical Use, *Clinicians' Guides to Radionuclidic Hybrid Imaging*.
- Kao, C. H., Hsu, W. L., Kao, P. F., Lan, W. C., Xie, H. L., Lin, M. C., & Chao, H. Y. (2010). An efficient and aseptic preparation of "sodium fluoride (^{18}F) injection" in a GMP compliant facility. *Annals of nuclear medicine*, 24(3), 149–155.
- Khan, F., Khan A.S. and Rao, N., (2020). Cleaning validation in pharmaceutical industries. *IJRPC*, 10(2), 205-214.
- Kilbourn, M.R., Jerabek, P.A., Welch, M.J. (1985). An improved [^{18}O]water target for [^{18}F]fluoride production. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 36, 327–328.
- Kilbourn, M.R., Rodnick, M.E. and Clark, M. (2020). Production of Short Half-Life PET Radionuclides. In *Handbook of Radiopharmaceuticals* (eds P. Scott and M. Kilbourn).
- Kitagawa, T., Yamamoto, H., Nakamoto, Y., Sasaki, K., Toshimitsu, S., Tatsugami, F., Awai, K., Hirokawa, Y., & Kihara, Y. (2018). Predictive Value of ^{18}F -Sodium Fluoride Positron Emission Tomography in Detecting High-Risk Coronary Artery Disease in Combination With Computed Tomography. *Journal of the American Heart Association*, 7(20), e010224.
- Köhler, M., Degering, D., Zessin, J., Füchtner, F., & Konheiser, J. (2013). Radionuclide impurities in [^{18}F]F⁻ and [^{18}F]FDG for positron emission tomography. *Applied*

- radiation and isotopes : including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine, 81, 268–271.
- Krämer, I., Federici, M., Kaiser, V., & Thiesen, J. (2016). Media-fill simulation tests in manual and robotic aseptic preparation of injection solutions in syringes. *Journal of oncology pharmacy practice : official publication of the International Society of Oncology Pharmacy Practitioners*, 22(2), 195–204.
- Krasikova, R. (2007). Synthesis modules and automation in F-18 labeling. In: *PET Chemistry, Ernst Schering Research Foundation Workshop*, vol. 62 (eds. P.A.Schubiger, L. Lehmann and M. Friebe), 289–316.
- Krüger, S., Buck, A. K., Mottaghy, F. M., Hasenkamp, E., Pauls, S., Schumann, C., Wibmer, T., Merk, T., Hombach, V., & Reske, S. N. (2009). Detection of bone metastases in patients with lung cancer: 99mTc-MDP planar bone scintigraphy, 18F-fluoride PET or 18F-FDG PET/CT. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 36(11), 1807–1812.
- Kumar, R., Sonkawade, R. G., Tripathi, M., Sharma, P., Gupta, P., Kumar, P., Pandey, A. K., Bal, C., DamLe, N. A., & Bandopadhyaya, G. (2014). Production of the PET bone agent (18)F-fluoride ion, simultaneously with (18)F-FDG by a single run of the medical cyclotron with minimal radiation exposure- a novel technique. *Hellenic journal of nuclear medicine*, 17(2), 106–110.
- Kurdziel, K. A., Shih, J. H., Apolo, A. B., Lindenberg, L., Mena, E., McKinney, Y. Y., Adler, S. S., Turkbey, B., Dahut, W., Gulley, J. L., Madan, R. A., Landgren, O., & Choyke, P. L. (2012). The kinetics and reproducibility of 18F-sodium fluoride for oncology using current PET camera technology. *Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine*, 53(8), 1175–1184.
- Kwieceński, J., Lassen, M. L., & Slomka, P. J. (2021). Advances in Quantitative Analysis of 18F-Sodium Fluoride Coronary Imaging. *Molecular imaging*, 2021, 8849429.
- Lakshmana Prabu, S., Suriya Prakash, T.N.K., Thirumurugan, R., (2014). Chapter 5 - Cleaning Validation and Its Regulatory Aspects in the Pharmaceutical Industry, *Developments in Surface Contamination and Cleaning*, William Andrew Publishing, 129-186.
- Langsteger, W., Heinisch, M., & Fogelman, I. (2006). The role of fluorodeoxyglucose, 18F-dihydroxyphenylalanine, 18F-choline, and 18F-fluoride in bone imaging with emphasis on prostate and breast. *Seminars in nuclear medicine*, 36(1), 73–92.

- Langsteger, W., Rezaee, A., Pirich, C., & Beheshti, M. (2016). ^{18}F -NaF-PET/CT and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP Bone Scintigraphy in the Detection of Bone Metastases in Prostate Cancer. *Seminars in nuclear medicine*, 46(6), 491–501.
- Lee, J. W., Yu, S. N., Yoo, I. D., Jeon, M. H., Hong, C. H., Shim, J. J., Chang, S. H., & Lee, S. M. (2019). Clinical application of dual-phase F-18 sodium-fluoride bone PET/CT for diagnosing surgical site infection following orthopedic surgery. *Medicine*, 98(11), e14770.
- Li, C. C., Farn, S. S., Yeh, Y. H., Lin, W. J., & Shen, L. H. (2011). Development and validation of an anion-exchange HPLC method for the determination of fluoride content and radiochemical purity in [^{18}F]NaF. *Nuclear medicine and biology*, 38(4), 605–612.
- Lodi, F., Boschi, S. (2017). Quality Control of PET Radiopharmaceuticals. In: Khalil, M. (eds) *Basic Science of PET Imaging*. Springer International Publishing Switzerland 105-127.
- Macedo, F., Ladeira, K., Pinho, F., Saraiva, N., Bonito, N., Pinto, L., & Goncalves, F. (2017). Bone Metastases: An Overview. *Oncology reviews*, 11(1), 321.
- Martins, P., Silva J, Ramos, M., Oliveira, I.M., Felgueiras. C.F., Herrerias, R., Zapparoli Júnior, C.L., Mengatti, J., Fukumori N., Matsuda, M. (2011). Radiochemical stability of radiopharmaceutical preparations, International Nuclear Atlantic Conference - INAC 2011 Belo Horizonte, MG, Brazil, October 24-28.
- Mick, C. G., James, T., Hill, J. D., Williams, P., & Perry, M. (2014). Molecular imaging in oncology: (^{18}F)-sodium fluoride PET imaging of osseous metastatic disease. *AJR. American journal of roentgenology*, 203(2), 263–271.
- Miele, E., Spinelli, G. P., Tomao, F., Zullo, A., De Marinis, F., Pasciuti, G., Rossi, L., Zoratto, F., & Tomao, S. (2008). Positron Emission Tomography (PET) radiotracers in oncology--utility of ^{18}F -Fluoro-deoxy-glucose (FDG)-PET in the management of patients with non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 27(1), 52.
- Mihon, M., Tuța, C.c., Lavric, V., Niculae, D. and Drăgănescu D. (2015). Quality control and stability study of the sodium fluoride injection [^{18}f]NaF, September *Farmacia* 63(5):765-769

- Molavipordanjani, S., Hosseinimehr, S.J. (2018). Fundamental concepts of radiopharmaceuticals quality controls, *Pharm Biomed Res* 4(3): 1-8.
- Murthy, N.D., and Chitra, K. (2013). A review article on cleaning validation. *IJPSR*, 2013; Vol. 4(9): 3317-3327.
- Nandy,, S.K., Rajan M.G.R., Soni, P.S. (2006). Production Of Sterile [F-18]Naf For Skeletal Pet Imaging *Indian J Nucl Med.*, 21.
- Park, H. J., Chang, S. H., Lee, J. W., & Lee, S. M. (2021). Clinical utility of F-18 sodium fluoride PET/CT for estimating disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Quantitative imaging in medicine and surgery*, 11(4), 1156–1169.
- Pawade, T. A., Cartlidge, T. R., Jenkins, W. S., Adamson, P. D., Robson, P., Lucatelli, C., Van Beek, E. J., Prendergast, B., Denison, A. R., Forsyth, L., Rudd, J. H., Fayad, Z. A., Fletcher, A., Tuck, S., Newby, D. E., & Dweck, M. R. (2016). Optimization and Reproducibility of Aortic Valve 18F-Fluoride Positron Emission Tomography in Patients With Aortic Stenosis. *Circulation. Cardiovascular imaging*, 9(10), e005131.
- PIC/S Guide PE 009-16, (2022). Pharmaceutical Inspection Convention, Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme, Manufacture of radiopharmaceuticals, Annex 3.
- PIC/S Guide PE 009-6, (2022). Pharmaceutical Inspection Convention, Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme, International guidelines on the standards required for the sterile preparation of medicinal products, Annex 1.
- PIC/S Guide PI 006-3;.2007. Pharmaceutical Inspection Convention, Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme, Recommendations on Validation Master Plan, Installation and Operational Qualification, Non-sterile Process Validation, Cleaning Validation.
- PIC/S Guide PI 007-6; 2011. Pharmaceutical Inspection Convention, Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme, Recommendation on the validation of aseptic processes.
- Piel, M., Vernaleken, I., & Rösch, F. (2014). Positron emission tomography in CNS drug discovery and drug monitoring. *Journal of medicinal chemistry*, 57(22), 9232–9258.
- Rahmani, S., Shahhoseini, S., Mohamadi, R., & Vojdani, M. (2017). Synthesis, Quality Control and Stability Studies of 2-[18F]Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose(18F-FDG) at

- Different Conditions of Temperature by Physicochemical and Microbiological Assays. *Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR*, 16(2), 602–610.
- Rohren, E. M., Etchebehere, E. C., Araujo, J. C., Hobbs, B. P., Swanston, N. M., Everding, M., Moody, T., & Macapinlac, H. A. (2015). Determination of Skeletal Tumor Burden on ¹⁸F-Fluoride PET/CT. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 56(10), 1507–1512.
- Ruth T.J. (2020). The Shortage of Technetium-99m and Possible Solutions. *Annu. Rev. Nucl. Part. Sci.* 2020. 70:77–94
- Sarikaya, I., Elgazzar, A. H., Sarikaya, A., & Alfeeli, M. (2017). Normal bone and soft tissue distribution of fluorine-18-sodium fluoride and artifacts on ¹⁸F-NaF PET/CT bone scan: a pictorial review. *Nuclear medicine communications*, 38(10), 810–819.
- Savisto, N., Bergman, J., Aromaa, J., Forsback, S., Eskola, O., Viljanen, T., Rajander, J., Johansson, S., Grigg, J., Luthra, S., & Solin, O. (2018). Influence of transport line material on the molar activity of cyclotron produced [¹⁸F]fluoride. *Nuclear medicine and biology*, 64-65, 8–15.
- Segall, G., Delbeke, D., Stabin, M. G., Even-Sapir, E., Fair, J., Sajdak, R., Smith, G. T., & SNM (2010). SNM practice guideline for sodium ¹⁸F-fluoride PET/CT bone scans 1.0. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 51(11), 1813–1820.
- Svensson, E., Christiansen, C. F., Ulrichsen, S. P., Rørth, M. R., & Sørensen, H. T. (2017). Survival after bone metastasis by primary cancer type: a Danish population-based cohort study. *BMJ open*, 7(9), e016022.
- Todde, S., Peitl, P. K., Elsinga, P., Kozirowski, J., Ferrari, V., Ocak, E. M., Hjelstuen, O., Patt, M., Mindt, T. L., & Behe, M. (2017). Guidance on validation and qualification of processes and operations involving radiopharmaceuticals. *EJNMMI radiopharmacy and chemistry*, 2(1), 8.
- Tzolos, E., & Dweck, M. R., (2020). ¹⁸F-Sodium Fluoride (¹⁸F-NaF) for Imaging Microcalcification Activity in the Cardiovascular System. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 40(7), 1620–1626.
- United States Pharmacopeia (USP). (2021). USP–NF Issue 1. Radioactivity General Chapter, 821.

- Vallabhajosula, S., Solnes, L., & Vallabhajosula, B. (2011). A broad overview of positron emission tomography radiopharmaceuticals and clinical applications: what is new?. *Seminars in nuclear medicine*, 41(4), 246–264.
- Visioni, A., & Kim, J. (2011). Positron emission tomography for benign and malignant disease. *The Surgical clinics of North America*, 91(1), 249–266
- Wang, Y., Chen, D., Augusto, R., Liang, J., Qin, Z., Liu, J., & Liu, Z. (2022). Production Review of Accelerator-Based Medical Isotopes. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(16), 5294.
- WHO Collaborating Centre for drug Statistics Methodology (2021) ATC/DDC Index. Преземено на 29.11.2021
https://www.whocc.no/atc_ddd_index/?code=V09IX06
- WHO Regional Office for Europe, (2000). Chapter 6.5 Fluorides Copenhagen, Denmark.
- WHO, (2004). World Health Organization, “Radiopharmaceutical products. In: Quality assurance of pharmaceuticals. A compendium of guidelines and related materials”, Vol. 2. Good Manufacturing practices and inspection., Geneva, World Health Organization.
- WHO, (2020). Technical Report Series 1025 - Annex 2 International Atomic Energy Agency and World Health Organization guideline on good manufacturing practices for radiopharmaceutical products WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations Fifty-fourth report.
- Wong, K. K., & Piert, M. (2013). Dynamic bone imaging with 99mTc-labeled diphosphonates and 18F-NaF: mechanisms and applications. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 54(4), 590–599.
- Wu, S., Pan, Y., Mao, Y., Chen, Y., & He, Y. (2021), Current progress and mechanisms of bone metastasis in lung cancer: a narrative review. *Translational lung cancer research*, 10(1), 439–451.
- Zacho, H. D., Jochumsen, M. R., Langkilde, N. C., Mortensen, J. C., Haarmark, C., Hendel, H. W., Jensen, J. B., & Petersen, L. J. (2019). No Added Value of 18F-Sodium Fluoride PET/CT for the Detection of Bone Metastases in Patients with Newly Diagnosed Prostate Cancer with Normal Bone Scintigraphy. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 60(12), 1713–1716.

Even-Sapir, E., Mishani, E., Flusser, G., & Metser, U. (2007). 18F-Fluoride positron emission tomography and positron emission tomography/computed tomography. *Seminars in nuclear medicine*, 37(6), 462–469.

Министерство за здравство (2010). Национална стратегија за превенција на орални заболувања кај деца од 0 до 14 години на Република Македонија за периодот 2008 - 2018 година.