

Opinnäytetyö (AMK)
Bio- ja elintarviketekniikka
Laboratoriotekniikan insinööri
2013

Miika Lehtinen

[¹¹C]6-OH-BTA-1 TUOTANNON SIIRTO JA OPTIMOINTI



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Miika Lehtinen

[¹¹C]6-OH-BTA-1 TUOTANNON SIIRTO JA OPTIMOINTI

Positroniemissiotomografia on laajalti käytössä oleva diagnostinen kuvantamismenetelmä, jolla saadaan kolmiulotteisia kuvia elävästä organismista. Kuvauksissa käytetyt merkkiaineet ovat nopeasti puoliintuvilla isotoopeilla leimattuja molekyylejä. Yleisimpiä merkkiaineissa käytettyjä isotooppeja ovat fluori-18, hiili-11 ja happi-15. Nämä isotoopit ovat nopeasti puoliintuvia ja ne esiintyvät yleisesti molekyyleissä, joten isotoopilla leimattu molekyyli ei muuta käyttäytymistään tutkittavassa kohteessa. Nopean puoliintumisen ansiosta myös tutkittavalle kohteelle tuleva annos pysyy tarpeeksi pienenä.

[¹¹C]6-OH-BTA-1 on hiili-11 leimattu molekyyli. Sillä kuvannetaan aivojen amyloidikerääntymiä ja sitä käytetään yleisesti Alzheimerintaudin kuvantamiseen.

Työn tarkoitus oli siirtää [¹¹C]6-OH-BTA-1 merkkiainetuotanto uusiin laboratoriotiloihin. Tilojen muutoksen myötä myös synteesiin jouduttiin tekemään muutoksia. Merkkiaineen siirron lisäksi piti myös aineen saantoa optimoida. Vanhalla menetelmällä merkkiaine valmistettiin hiilidioksidista ¹¹CO₂, kun uudessa menetelmässä se valmistetaan metaanista ¹¹CH₄. Vanhan menetelmän märkäreaktio korvattiin uudessa menetelmässä jodireaktorilla. Tämän vaikutus näkyi selvimmin merkkiaineen ominaisradioaktiivisuudessa, mutta toi mukanaan ongelmat radiokemiallisessa puhtaudessa. Merkkiaineen saannon optimointia varten tehtiin testisarja eri säteilytysparametreillä. Suuremmalla alkuaktiivisuudella saatiin saanto halutulle tasolle, mutta ongelmaksi nousi suurten säteilytysvirtojen aiheuttama ammoniakki sivutuote. Ammoniakkia varten laitteeseen rakennettiin ammoniakkiloukku, jolla saatiin estettyä ammoniakin haitallista vaikutusta itse synteesiin. Uudessa menetelmässä muutettiin myös lopputuotteen formulointimenetelmää pyöröhaihdutuksesta SPE-formulointiin. Laitteistoon rakennettiin oma loppuformulointimoduuli, jolla pyöröhaihdutin saatiin korvattua. Formulointimenetelmän vaihdolla toivottiin toistettavampaa menetelmää niin käytön kuin liuotinjäämien suhteen.

ASIASANAT:

[¹¹C]6-OH-BTA-1, PET, Hiili-11

Miika Lehtinen

TRANSFER AND OPTIMIZATION OF [¹¹C]6-OH-BTA-1 PRODUCTION

Positron emission tomography is a commonly used diagnostic imaging method which is used to obtain three dimensional images of living organisms. PET tracers which are used in PET imaging are molecules labeled with short living radioisotopes. The most commonly used isotopes are fluorine-18, carbon-11, and oxygen-15. These isotopes have a moderately short half-life and they are commonly found in molecules so they do not affect the natural mechanism of the subject. Due to the moderately short half life the radioactive dose to the imaging subject remains low.

[¹¹C]6-OH-BTA-1 is a carbon-11 labelled molecule. It is used to image amyloid accumulation in the brain and is therefore commonly used to diagnose Alzheimer disease.

The purpose of this thesis project was to transfer the [¹¹C]6-OH-BTA-1 radio compound production to new laboratory premises. Due to the new premises changes to the synthesis were needed as well. A further aim was to optimize the yield of the product. The old method used carbon dioxide ¹¹CO₂ as the starting material which was replaced by methane ¹¹CH₄. The wet method used in the old method to obtain methyl iodine was replaced by a iodine reactor in the new method. The effects of these changes were most clearly seen in the specific radioactivity but on the other hand they caused problems in the radiochemical purity. A series of irradiations with different parameters was conducted to optimize the yield of the product. The yield was brought to the needed level with greater starting activity but ammonia was produced a byproduct and it was harmful to the synthesis. An ammoniatrap was added to the synthesis device to prevent the disadvantages of ammonia. The formulation of the product was changed from rotary evaporation to solid phase extraction. A solid phase extraction module was built and added to the synthesis device. The aim with this change was to obtain more reproducible method as regards the synthesis duration and solvent residues.

KEYWORDS:

[¹¹C]6-OH-BTA-1, PET, Carbon-11

SISÄLTÖ

KÄYTETYT LYHENTEET (TAI) SANASTO	4
1 JOHDANTO, TAUSTA JA TAVOITTEET	5
2 MITÄ ON PET	6
3 HIILI-11 ISOTOOPPI	7
3.1 Yleistä	7
3.2 Hiili-11-isotooppi PET-kuvantamisessa	8
4 MERKKIAINETUOTANTO	9
4.1 Radionuklidituotanto	9
4.2 Synteesi	10
4.2.1 [¹¹ C]6-OH-BTA-1-Merkkiaine	12
4.2.2 Radionuklidin keräys ja saattaminen reagoivaan muotoon	13
4.2.3 Merkkiaineen leimaus	15
4.2.4 Leimatun merkkiaineen puhdistus	15
4.2.5 SPE-formulointi	15
5 KÄYTÄNNÖN TYÖN OSUUS	16
5.1 Lähtökohta ja tavoitteet	16
5.1.1 Metyylijodidin valmistus: erot uuden ja vanhan menetelmän välillä	17
5.2 Ammoniakkiloukku	17
5.3 Synteetit ja saannon optimointi	18
5.3.1 Säteilytysvirran ja lämpötilan säädön vaikutus	18
5.4 Kiinteäfaasiuuton käyttöönotto ja kehitys	19
5.4.1 SPE-moduuli	20
5.4.2 Puhdistus SPE-moduulilla	21
6 TULOKSET JA POHDINTA	21
LÄHTEET	24

KUVAT

Kuva 1: Annihilaatioreaktion havaitseminen	7
Kuva 2: Kohtiokammio, kammio avattuna, kammio koottuna	8
Kuva 3: CC 18/9 syklotroni	10
Kuva 4: Synteesikaappi ja laitteisto	12
Kuva 5: Rakennekaavio 6-OH-BTA-0	13
Kuva 6: Rakennekaavio [¹¹ C]6-OH-BTA-1	13
Kuva 7: Metyylijodidin valmistus	14
Kuva 8: Merkkiaineen leimausreaktio	15
Kuva 9: SPE-moduuli	20

TAULUKOT

Taulukko 1: Säteilysparametrit ja saanto	21
Taulukko 2: Liuotinjäämät kiinteäfaasiutolla ja pyöröhaihduttimella	23

KÄYTETYT LYHENTEET (TAI) SANASTO

TYKS	Turun yliopistollinen keskussairaala
PET	Positroniemissiotomografia
SRA	Ominaisradioaktiivisuus, Specific radioactivity
SPE	Kiinteäfaasiuutto, Solid phase extraction
keV	Kiloelektronivoltti
MeV	Megaelektronivoltti
THF	Tetrahydrofuraani
[¹¹ C]6-OH-BTA-1	(N-[methyl- ¹¹ C]2-(4'-methylaminophenyl)-6-hydroxy-benzothiazole)
PEEK	Polyeetterieetteriketoni
HPLC	Korkean erotuskyvyn nestekromatografia, High performance liquid chromatography

1 JOHDANTO, TAUSTA JA TAVOITTEET

Turun PET-keskus toimii useissa eri rakennuksissa. TYKS:in tiloissa sijaitsevat PET-kamerat ja toinen, uudempi, radiokemian laboratorioista. Vanhempi radiokemian laboratorio sijaitsee Åbo akademian Gadolinian rakennuksessa tuomiokirkon kupeessa. PET-keskuksella on toimintaa myös Biocityn rakennuksissa, jossa tapahtuvat prekliiniset- ja eläintyöt. Turun PET-keskus tuottaa kuvan-tamispalveluita niin kliiniseen potilastyöhön, kuin akateemiseen tutkimustyöhön.

Molemmilla radiokemian laboratorioilla on käytössään syklotroni, jolla tuotetaan synteeseihin tarvittavat radioisotoopit. Vanhemman laboratorion tilat ja radiolääkeaineiden kuljetus TYKS:iin aiheuttavat kuitenkin painetta saada toimintaa siirrettyä enemmän uuteen laboratorioon. Työni tarkoitus olikin saada Gadolinian laboratoriossa valmistettava [¹¹C]6-OH-BTA-1-merkkiaine siirrettyä uusiin tiloihin. Siirto uusiin tiloihin tarkoitti myös muutoksia itse menetelmään, jolla merkkiainetta tehtiin. Työn tarkoituksena oli saada merkkiaine rutiinituotantoon, eli saanto piti saada riittävän isoksi. Samalla haluttiin muokata loppuformuloinnista toistettavampi ja päästä eroon pyöröhaihduttimesta loppuformuloinnissa.

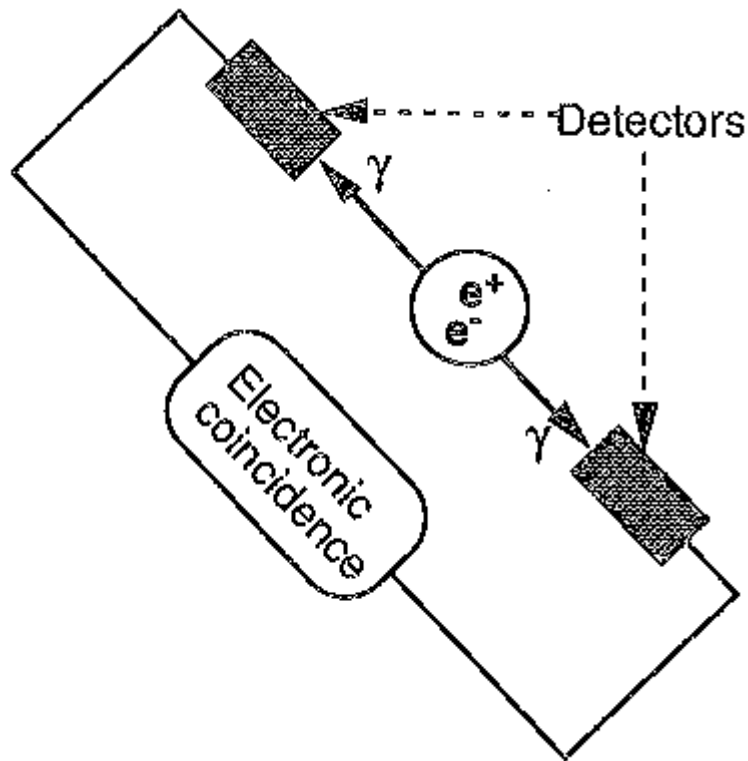
Menetelmän muutos sekä lähtöaineen vaihtuminen [¹¹C]hiilidioksidista [¹¹C]metaaniin huomattiin selvimmin merkkiaineen ominaisradioaktiivisuudessa ja sen saannossa. Merkkiaineen saannon saaminen halutulle tasolle vaati säteilytysparametrien muuttamista, eli suurempaa alkuaktiivisuutta. Loppuformulointia varten synteesisikaappiin rakennettiin oma kiinteäfaasiuutto-moduuli, jolla pyöröhaihdutin saatiin korvattua. Synteasilaitteeseen rakennettiin myös ammoniakkiloukku, jonka tarkoitus oli estää kohtiossa sivutuotteena syntyvän ammoniakkin pääsy synteasilaitteistoon.

2 MITÄ ON PET

PET on lyhenne sanoista positroniemissiotomografia. PET-kuvantaminen on laajalti käytetty metodi, jolla saadaan kuvannettua solujen toimintaa elävässä ja normaalisti toimivassa eliössä. PET on siis enemmän toiminnallinen kuin rakenteellinen kuvantamismenetelmä. PET-kuvantamisen ominaispiirre on, että sillä saadaan kuvannettua laaja-alaisesti erilaisia biologisia prosesseja. PET:n avulla on mahdollista kuvantaa hyvinkin alhaisia konsentraatioita positroniemittoivia molekyyliä ja toisaalta alhainen konsentraatio on usein myös vaatimuksena kuvantamiselle. PET-kuvantaminen on laajalti käytössä kliinisessä- ja tutkimustyössä kaikkialla maailmassa (1). Tärkeimpiä kliinisiä käyttöalueita PET-kuvantamisessa on onkologia, jossa yleisimmin käytetään ^{18}F -leimattua fluorideoksiglukoosia. ^{18}F :n puoliintumisaika on suhteellisen pitkä, mikä mahdollistaa koko luuston kuvantamisen. PET-kuvantamista käytetään laajalti myös neurologiassa. Neurologiset sairaudet aiheuttavat muutoksia aivojen aineenvaihdunnassa jo ennen kuin ne aiheuttavat rakenteellisia muutoksia, jotka voidaan havaita magneettikuvalla tai tietokonetomografialla. PET-kuvantamisella voidaan kartoittaa aivojen verenkiertoa, hapenkulutusta ja reseptorisysteemien käyttäytymistä jo alkuvaiheessa sairautta, jopa ennen kuin kliinisiä oireita esiintyy (2).

PET-kuvauksen periaate on positronisäteilijöiden annihilaatioreaktiossa muodostuvien vastakkaisiin suuntiin emittoituvan säteilyn havaitseminen. Kuvauksissa käytettävät radionuklidit emittoivat hajotessaan positroneja. Positronit ovat elektronien antihukkasia. Positronikantama ja elinikä aineessa on lyhyt. Kantama on radionuklidista riippuen noin 1-2 mm. Positronin vauhti hidastuu aineessa kulkiessaan, jolloin se yhdistyy elektroniin. Yhdistyessä tapahtuu annihilaatioreaktio, jossa molemmat hiukkaset häviävät. Reaktiossa emittoituu kaksi 511 keV:n gammakvanttia täysin vastakkaisiin suuntiin. Gammakvantit havainnoidaan PET-kamerassa olevilla ilmaisimilla. Yleisimpiä PET-kuvauksissa käytettyjä radionuklideja ovat ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O ja ^{18}F (3). Nykyään

myös useat metallit esim. kupari ja gallium ovat yleistyneet merkkiainetuotannossa.



Kuva 1: Annihilaatioreaktion havaitseminen

3 HIILI-11 ISOTOOPPI

3.1 Yleistä

Hiili on luonnossa yleisimmin esiintyvä alkuaine. Hiiltä on lähes poikkeuksetta kaikissa elävissä organismeissa ja yhdisteissä. Hiilen yleisin isotooppi on ^{12}C . Hiili-11-isotooppia ei esiinny luonnossa vaan se tehdään keinotekoisesti hiukkaskiihdyttimillä. Hiili-11-isotoopin puoliintumisaika on 20,38 minuuttia.

Hiili-11-isotooppi tuotetaan ohjaamalla protonisuihku typpiin, jolloin syntyy alfahiukkanen ja hiili-11-isotooppi. Ydinreaktion kaava on $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$. Tarvittava hiukkassuihku tuotetaan useimmiten syklotroneilla, joilla saadaan aikaan tarpeeksi suuri energia kiihdyttävään hiukkaseen. Hiili-11 tuottamiseen ei

tarvita yli 20 MeV:n maksimienergioita. Reaktio tapahtuu kohtiokammiossa, jossa kiihdytetyt hiukkaset törmäytetään kohtiomateriaaliin. Kohtiokammio on metallista rakennettu kammio, jossa kohtiomateriaali sijaitsee. Radio-lääketuotannossa kaasukohtiot ovat yleisimpiä niiden käytännöllisyyden vuoksi, mutta muitakin kohtiotyyppejä on käytössä (esim. kohtiomateriaalina voi olla kiinteä boori). Valmistettaessa hiili-11-metaania käytetään kohtiokaasuna typpi- ja vetykaasun seosta (4).



Kuva 2: Kohtiokammio, kammio avattuna, kammio koottuna

3.2 Hiili-11-isotooppi PET-kuvantamisessa

PET-kuvantamisesta on tullut nopeasti kasvava ja tärkeä väline sekä tieteellisessä että kliinisessä työskentelyssä. Se on osoittanut paikkansa niin tautien tutkimuksessa kuin diagnosoinnissakin ja iso osa kehityksestä on myös kehittyneen synteettisen kemian ansiota. Hiili-11-radionuklidilla on tärkeä osa tässä kehityksessä, koska ^{11}C :n ansiosta käytännössä melkein mikä vain yhdiste voidaan leimata. Hiili-11:n lyhyt puoliintumisaika (20,38 min) aiheuttaa sen, että synteetien ja puhdistusten on oltava nopeita ja on osasyynä siihen, että hiili-11-isotooppi on jäänyt hieman fluori-18 tehtyjen merkkiaineiden varjoon (5).

Useita hiili-11 merkkiaineita on jo kliinisessä käytössä. Muita yleisessä käytössä olevia merkkiaineita ovat esim. metioniini, jota käytetään aminohappo-metabolian kuvantamiseen ja raklopridi, jota käytetään dopamiini D_2 -reseptorien

kuvantamiseen. Uusia merkkiaineita kehitetään jatkuvasti jo käytössä olevien rinnalle.

4 MERKKIAINETUOTANTO

4.1 Radionuklidituotanto

Radionuklidituotanto tapahtuu Turun PET-keskuksessa hiukkaskiihdyttimillä eli syklotroneilla. Hiukkaskiihdyttimillä hiukkasia kiihdytetään sähkökentän avulla, joten vain sähköisesti varattuja hiukkasia voidaan ylipäättään kiihdyttää. Hiukkaskiihdyttimiä on useita erilaisia ja yksinkertaisimmissa malleissa sähkökenttä muodostuu vain kahden metallilevyn väliin, joista toinen yhdistetään jännitelähteen positiiviseen ja toinen negatiiviseen napaan. Hiukkaset ohjataan ulos levyssä olevista rei'istä. Tällainen kiihdytin on esim. kuvaputkitelevisioiden kuvaputkissa.

Suuremmissa kiihdyttimissä on käytössä kaksi eri mallia hiukkasten kiihdyttämiseen. Lineaarikiihdyttimissä on useita kiihdytyslementtejä asetettu peräjälkeen niin monta, että tarvittava energia saavutetaan. Syklotroneissa ja synkrotroneissa hiukkanen ohjataan kaareutuvalle radalle. Synkrotroneissa kiihdytinelementit ja magneetit on kierretty lenkille, jolloin samoja elementtejä käyttäen hiukkanen saadaan kiertämään suljettua ympyrän muotoista rataa. Tällöin samoja kiihdytinelementtejä voidaan käyttää saman hiukkasen kiihdyttämiseen. Ohjaavien magneettikenttien voimaa on kasvatettava suhteessa kasvavaan energiaan, jotta hiukkaset pysyvät halutulla radalla. Kiihdyttimissä hiukkaset kulkevat tilassa, johon on pumpattu vakuumi. Sen tarkoituksena on estää hiukkasia menettämästä energiaansa tai siroamasta radaltaan törmättyään ilman kaasuhiukkasiin (6).

Radiolääketuotannossa käytetään useimmiten siihen räätälöityjä syklotroneja, joissa partikkelienergia on vakio. Synkrotroneja käytetään yleisimmin hiukkasfysiikan tutkimuksissa, sillä niillä kyetään kiihdyttämään partikkeleita korkeisiin energioihin.



Kuva 3: CC 18/9 syklotroni

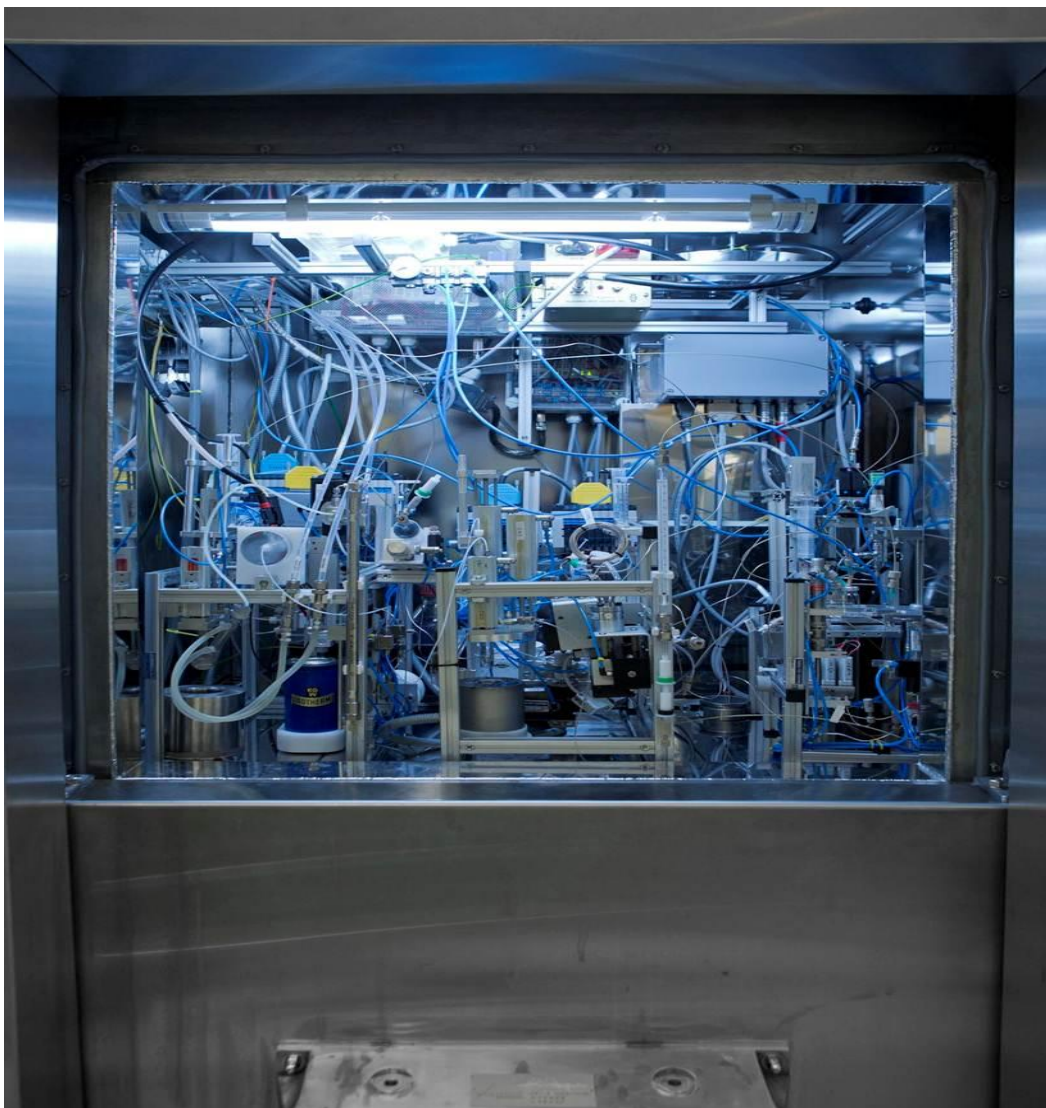
Turun PET-keskuksella on Gadolinian tiloissaan MGC-20 syklotroni, ja RK2:n tiloissa venäläisvalmisteinen CC 18/9, D.V. Efremov Scientific Research Institute of Electrophysical Apparatus, syklotroni jolla protonit saadaan kiihdytettyä $17,0 \pm 0,1$ MeV:iin. Kiihdytetyt protonit törmäytetään kohtiokammiossa, jolloin syntyy haluttua radioaktiivista lähtöainetta.

4.2 Synteesi

Radiokemialla on joitain erityispiirteitä, jotka eroavat normaalista orgaanisesta hiilikemiasta. Vaikka hiili onkin yleisin alkuaine ja kaiken orgaanisen kemian perusta, niin sitä ei voida suoraan soveltaa radiokemiaan. Radiokemiassa

reaktioiden lähtökohtia joudutaan usein säätämään tasolle, joilla ne eivät enää toimi optimaalisesti. Käytettävät lähtöaineet, mahdolliset sivutuotteet, kylmän hiilen eli ei-aktiivisen hiilen massa ja tietysti puoliintumisajan määräämä synteesiaika erottaa radiokemian normaalista hiilikemiasta.

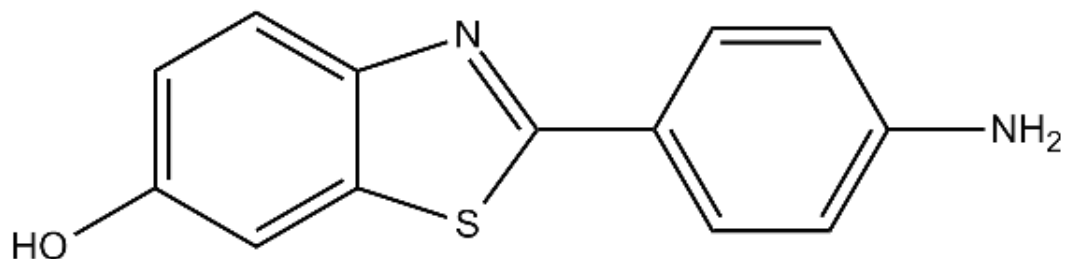
Itse radiolääkesynteesi etenee pääpiirteittäin seuraavasti. Radionuklidi johdetaan kohtiosta synteesikaappiin, jossa se on ensin kerättävä ja huuhdeltava mahdollisista epäpuhtauksista. Synteesikaappi on lyijyllä suojattu teräsrunkoinen kaappi, jossa synteesilaitteisto sijaitsee. Jos radionuklidin kemiallinen muoto itsessään ei ole tarpeeksi reaktiivinen, se on saatettava paremmin reagoivaan muotoon. Reaktiivinen leimausaine voidaan valmistaa eri menetelmillä. Vasta tämän jälkeen voidaan suorittaa itse leimaus, jonka tuloksena saadaan merkkiaine. Merkkiaine puhdistetaan sivutuotteista ja jos käytössä on HPLC erotus niin myös HPLC-ajolioksesta. Tämän jälkeen se formuloidaan lääkeaineeksi kelpaavaan muotoon ja steriilisuodatetaan. Kun merkkiaine on saatu injisoitavaan muotoon, se identifioidaan ja se käy läpi vaadittavan laatukontrollin. Tämän kaiken on tapahduttava puoliintumisajan määräämässä aikaikkunassa.



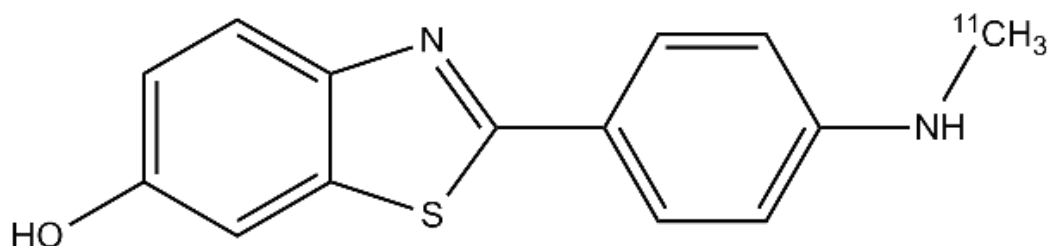
Kuva 4: Synteesikaappi ja laitteisto

4.2.1 [^{11}C]6-OH-BTA-1-Merkkiaine

Hiili-11 Pittsburghin yhdiste B, [^{11}C]PIB, [^{11}C]6-OH-BTA-1, yhdisteellä on varsinkin työkäytössä monta nimeä, johtuen ehkä siitä, että yhdisteen koko nimi (N-[methyl- ^{11}C]2-(4'-methylaminophenyl)-6-hydroxy-benzothiazole) olisi hieman hankala lausua aina yhdisteestä puhuttaessa. [^{11}C]6-OH-BTA-1-merkkiainetta käytetään yleisesti PET-kuvauksissa kuvantamaan amyloidi- β -kerääntymiä aivoissa. Amyloidi- β -kerääntymät aivoissa ovat neuropatologiassa avainasemassa Alzheimerintaudin diagnosoinnissa. [^{11}C]PIB:iä käytetäänkin yleisesti PET-kuvauksissa Alzheimerintaudin kuvantamiseen ja diagnosoimiseen (8).



Kuva 5: Rakennekaavio 6-OH-BTA-0



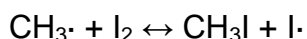
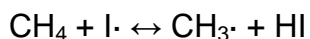
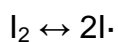
Kuva 6: Rakennekaavio [^{11}C]6-OH-BTA-1

4.2.2 Radionuklidin keräys ja saattaminen reagoivaan muotoon

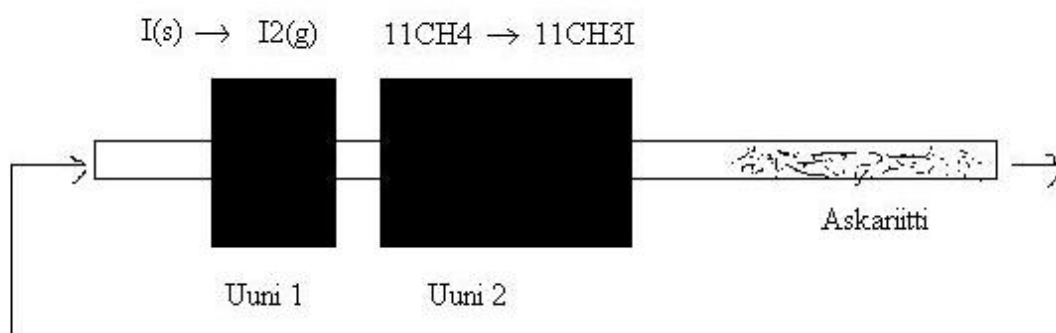
Seuraavassa käsitellään Turun PET-keskuksessa käytössä olevaa ja tässä työssä käytettyä tuotantotapaa.

[^{11}C]metaania lähtöaineenaan käyttävä radiolääkeainesynteesi alkaa syklotronilta, jolla tuotetaan radioaktiivinen [^{11}C]CH₄-kaasu kohtiokaasua säteilyttämällä. Kaasu johdetaan teräskapillaareja pitkin kuumakemiakammioon (hot cell) eli synteesikaappiin. Radioaktiivinen kaasu sidotaan teräskapillaarista valmistettuun loukkuun, joka on täytetty täyteaineella ja jäähdytetty nestemäisellä argonilla. Loukkua huuhdellaan kantajakaasulla, jolloin ei-toivotut kaasut ja sivutuotteet saadaan huuhdeltua loukusta. Kun aktiivinen kaasu on saatu loukkuun ja loukku huuhdeltua, siirretään se paineilmaohjatuilla kelkoilla vesihauteseen, jossa se lämmitetään vapauttaa kaasun. Kaasu johdetaan kuivausaineputkien läpi jodireaktoriin, jossa kaasufaasihalogenoinnilla valmistetaan [^{11}C]metaanista [^{11}C]metyylijodidia. Tässä reaktiossa käytetään jatkuvatoimista putkireaktoria. [^{11}C]metaani huuhdotaan keräysloukusta kantajakaasulla (argon) kvartsiputkeen, jonka ympärillä on kaksi uunia.

Ensimmäisen uunin lämpötila on 60 °C ja uunin kohdalla kvartsiputkessa on jodikiteitä. Toisen uunin lämpötila on 725 °C. Ensimmäisen uunin kohdalla metaani sekoittuu jodin kanssa, joka on höyrystynyt lämmön vaikutuksesta. Kaasuseos kulkee kantajakaasun mukana jälkimmäisen uunin lämpötilavyöhykkeeseen, jossa lämpötila toimii radikaalireaktion initiaattorina.



Kuumassa reaktiovyöhykkeessä I_2 ja $I\cdot$ muodostavat tasapainotilan ja [^{11}C]metaani hajoaa osittain pyrolyyttisesti. Reaktiossa ei siis tarvita katalyyttejä. Uunien jälkeen reaktiokaasut jatkavat huoneenlämpötilassa olevaan kvartsiputken osaan, jossa jodikaasu jäähtyy ja kondensoituu. Kvartsiputken loppuosa on pakattu askariitilla, joka sitoo reaktiosta tulleen vetyjodidin ja jäljelle jääneet jodihöyryt. Kaasua kierrätetään pumpulla, jolloin saadaan tehostettua kaasun reagoimista. [^{11}C]metyylijodidi kerätään metyylijodidiloukkuun (7).



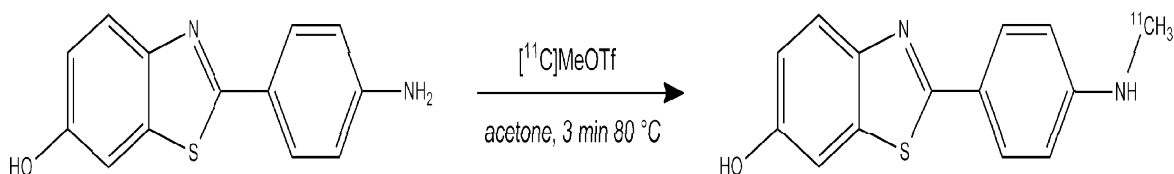
Kuva 7: Metyylijodidin valmistus

Kun metyylijodidi on saatu kerättyä loukkuun, lasketaan loukku 190 °C öljyhauteeseen, jolloin kaasu vapautuu. Kaasu johdetaan 200-asteisessa uunissa sijaitsevan triflaattikolonnin läpi, jolloin metyylijodidi reagoi

metyylitriflaatiksi (MeOTf). Metyylitriflaatti kuplitetaan kantajakaasun avulla reaktio-astiaan, jossa tapahtuu merkkiaineen leimaus.

4.2.3 Merkkiaineen leimaus

Reaktioastiaan valmistetaan reaktioseos, jossa prekursori 6-OH-BTA-0 on liuotettu asetoniin. Aktiivinen [^{11}C]metyylitriflaatti kuplitetaan reaktioastiaan. Kun radioaktiivisuus on saatu reaktioastiaan, siirretään reaktioastia $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ilmalämpöhauteeseen kolmeksi minuutiksi. [^{11}C]MeOTf reagoi prekursorin kanssa jolloin saadaan [^{11}C]6-OH-BTA-1.



Kuva 8: Merkkiaineen leimausreaktio

4.2.4 Leimatun merkkiaineen puhdistus

Kun leimausreaktio on suoritettu lisätään reaktioastiaan HPLC-ajoliuos. Reaktioseos injisoidaan HPLC-kolonneihin, jolloin merkkiaine saadaan puhdistettua reaktio-seoksesta. Tuotteen etenemistä kolonnissa seurataan radioaktiivisuus- ja UV-detektorien avulla. Reaktioseoksesta erotettu tuotefraktio kerätään SPE-moduuliin loppuformulointia varten. Tätä puhdistusta ennen loppuformulointia kutsutaan preparatiiviseksi puhdistukseksi.

4.2.5 SPE-formulointi

Loppuformulointi SPE-moduulilla on hyvin toistettava. SPE (solid phase extraction), kiinteäfaasiuutto on kromatografinen puhdistusmenetelmä, jossa tuote ajetaan kiinteään faasin sisältävään kolonneihin. Tuote puhdistetaan ajoliuosjäämistä ja puhdistuksen jälkeen kerätään kolonnista. Preparatiivisesti puhdistettu tuotefraktio kerätään SPE-moduulin ensimmäiseen ruiskuun, josta se painetaan kolonneihin. Tuote jää kolonneihin, jonka jälkeen loppu ajoliuos huuhdellaan kolonnista pesuliuksella. Tuote eluoidaan kolonnista etanolilla

välipulloon, jonka jälkeen se imetään ruiskuun ja painetaan lopputuotepulloon steriilisuodattimen kautta. Lopputuotteen formuloinnissa on usein mukana apuaineita, jotka estävät tuotteen radiolyysiä eli tuotteen hajoamista säteilyn vaikutuksesta. Samalla apuaineet estävät joidenkin lopputuotteiden kiinnittymistä pintoihin esim. suodattimen kalvoon tai laitteiston linjoihin.

5 KÄYTÄNNÖN TYÖN OSUUS

5.1 Lähtökohta ja tavoitteet

Työn lähtökohtana oli saada [^{11}C]6-OH-BTA-1-merkkiaineen valmistus siirrettyä vanhoista tiloista uusiin tiloihin. Tilojen muutoksen ohella suurin muutos merkkiaineen ja sen synteessin kannalta oli lähtöaineen vaihtuminen hiilidioksidista metaaniin. Tästä johtuen myös leimausaine valmistettiin eri menetelmällä.

Tavoitteena oli saada synteesi toimimaan ja sen jälkeen optimoida tuotantoa. Tuotannon optimointiin haasteita toi eritoten lähtöaineen muutos hiilidioksidista metaaniin. Hiilidioksidista lähdettäessä saadaan yleensä suurempi saanto eli aktiivista tuotetta saadaan enemmän verrattuna metaanista tehtävään synteesiin. Metaanista tehtävän synteessin saanto on yleensä pienempi, mutta tuotteen ominaisaktiivisuus (SRA specific radioactivity) on parempi. [^{11}C]6-OH-BTA-1-merkkiaineen kohdalla tuotteen saanto katsotaan ominaisaktiivisuutta tärkeämmäksi, joten synteessin optimoinnilla pyrittiin saamaan tuotteen saantoa paremmaksi.

Toinen, isompi muutos synteessissä, on lopputuotteen formulointi. Vanhassa menetelmässä preparatiivisen erottelun jälkeen tuotefraktio kerättiin pyöröhaihduttimen kolviin ja haihdutettiin alipaineella. Tämä menetelmä ei ollut kovin toistettava esim. liuotinjäämien suhteen, joten sitä haluttiin muokata toistettavammaksi.

5.1.1 Metyylijodidin valmistus: erot uuden ja vanhan menetelmän välillä

Suurimmat erot synteessissä näiden kahden laboratorion välillä on metyylijodidin valmistus. Vanhassa menetelmässä lähtöaineena on $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$. Se muutetaan märkämenetelmällä ensin metyylijodidiksi ja sitä kautta metyyliotriflaatiksi. Märkämenetelmässä $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ kuplitetaan reaktioastiaan, johon on lisätty THF ja THF/LiAlH₄-reaktioseos. Kun kaasu on kuplitettu reaktioseokseen siirretään reaktioastia lämmitykseen, jolloin THF saadaan poistettua astiasta. Tämän jälkeen reaktioastiaan lisätään jodivetyhappo. Jodivetyhappo reagoi astiassa jolloin syntyy $[^{11}\text{C}]\text{metyylijodidia}$. $[^{11}\text{C}]\text{Metyylijodidi}$ siirretään kaasuvirtauksen avulla triflaattikolonnin läpi, jolloin se reagoi $[^{11}\text{C}]\text{metyyliotriflaatiksi}$, joka kuplitetaan reaktioastiaan. Menetelmällä saadaan parempi saanto, mutta SRA jää matalammaksi verrattuna uuteen menetelmään. Uudessa menetelmässä lähtöaineena on $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$, jolloin se muutetaan metyylijodidiksi jodireaktorilla. Märkämenetelmän huonompi SRA johtuu reagensseista, jotka sitovat ilmasta hiilidioksidia. Hiilidioksidia on ilmassa jo alkujaankin enemmän kuin metaania. Ei-aktiivista, eli kylmää hiiltä tulee reaktioon myös THF:n hajoamistuotteina.

5.2 Ammoniakkiloukku

Työn edetessä huomattiin, että radionuklidituotannon yhteydessä säteilytettäessä kohtiokaasua muodostui sivutuotteena ammoniakkia, joka on haitallinen lääkeainesynteesille. Ammoniakki laskee tuotteen saantoa ja kontaminoi kaasujen kuivaukseen ja keräämiseen tarkoitetut loukut ja kuivausaineputket. Ammoniakin muodostuminen vaatii korkeita säteilytysvirtoja, joita käytetään $[^{11}\text{C}]\text{6-OH-BTA-1}$ tuotannossa. Ammoniakin vaikutusta synteisiin pyrittiin vähentämään erinäisillä kuivausaineputkilla, mutta niiden kyky estää ammoniakin haittavaikutuksia oli vaillinainen. Putket kuluivat myös loppuun hyvin nopeasti, joten niitä jouduttiin vaihtamaan usein, mikä vaikeuttaa synteisien joustavuutta ja aikataulutusta.

Ammoniakkiloukku tehtiin metallikapillaarista, joka täytettiin pitkäkuituisella lasivillalla. Loukku kiinnitettiin synteasilaitteeseen paineilmaohjattuun telineeseen, jolla loukku lasketaan nestemäistä argonia sisältävään termos-

hauteeseen. Loukku lasketaan hauteeseen jäähtymään n. 10 min. ennen synteessin alkua, jotta se ehtii jäähtyä tarpeeksi. Loukku asennettiin synteessilaitteen alkupäähän ennen ensimmäistä [^{11}C]CH₄-loukkua. Synteessin alussa kohtiolta tuleva kaasu kulkee ammoniakkiloukun läpi. Tämän vaiheen jälkeen venttiilien positio vaihdetaan, jolloin kaasu ei enää kulje loukun läpi ja linja huuhdellaan. Tällöin saadaan estettyä ammoniakkin pääsy itse synteessivaiheisiin.

5.3 Synteetit ja saannon optimointi

Saannon optimointia varten tehtiin synteesejä eri säteilytysparametreilla. Tarkoituksena oli löytää synteessille optimaalinen lähtöaktiivisuus ja samalla pitää säteilytys mahdollisimman lyhyenä ja tehokkaana. Tuotetta pyrittiin saamaan riittävä määrä kahden potilaan annoksiin eli vähintään 1,5 GBq. Alkuaktiivisuuden tuotossa piti ottaa huomioon myös kaappiin jäävä aktiivisuus ja sen puoliintuminen, sillä samalla synteessilaitteistolla tehdään usein toinenkin synteesi samana päivänä.

5.3.1 Säteilytysvirran ja lämpötilan säädön vaikutus

Synteesejä lähdettiin tekemään samoilla parametreilla kuin jo käytössä ollut [^{11}C]Raclopride-merkkiainetta. Alussa säteilytettiin 20 minuuttia 20 μA :n virralla ja 20 °C lämpötilassa. Saanto tällä alkuaktiivisuudella oli parhaimmillaan 500 MBq, joten saanto ei noussut sille tasolle, jolle se haluttiin. Haluttua lopputuotteen määrää yritettiin ensin nostaa lisäämällä alkuaktiivisuuden määrää eli muuttamalla säteilytysparametrejä. Seuraavaksi säteilytettiin kohtiota 20 minuuttia 30 μA :n virralla ja 40 °C lämpötilassa, jolloin alkuaktiivisuus nousi ja lopputuotetta saatiin 900 - 1100 MBq. Tämän jälkeen kohtiokaasua säteilytettiin 30 minuuttia 40 μA :n virralla ja 60 °C lämpötilassa, jolloin tuotteen saanto saatiin 1,5 GBq tasolle. Jokaisella eri säteilytysvirralla, lämpötilalla ja ajalla tehtiin useampi synteesi, joita voitiin vertailla keskenään. Synteessien vertaileminen ei kuitenkaan kerro kaikkea säteilytysparametrien vaikutuksesta, sillä itse synteessissä on niin monta lopputuotteen saantoon vaikuttavaa tekijää. Testisynteesejä tehtäessä huomattiin, että lopputuote jää

loppusuodatuksessa kiinni steriilisuodattimeen. Steriilisuodattimeen jäävän aktiivisuuden määrä vaihteli, mutta osuus lopputuotteen aktiivisuudesta oli huomattavan suuri. Jos suodattimeen ei jäisi aktiivisuutta, riittäisi tarvittavaan saantoon pienempikin alkuaktiivisuus. Steriilisuodatukseen vaihdettiin erilainen suodatin, jolloin suodattimeen jäävän aktiivisuuden määrää saatiin vähennettyä.

5.4 Kiinteäfaasiuuton käyttöönotto ja kehitys

Kiinteäfaasiuutto valittiin uuden menetelmän loppuformulointimenetelmäksi, koska sillä on huomattavia etuja pyöröhaihduttimella tapahtuvaan menetelmään. Vanhassa menetelmässä tuotefraktio kerättiin pyöröhaihduttimeen ja haihdutettiin alipaineella. Haihdutuksen jälkeen haihdutusjäätöseen lisättiin loppuformulointiliuos ja liuos imettiin alipaineella lopputuotepulloon. SPE-formuloinnin toistettavuus on huomattavasti parempi kuin pyöröhaihdutuksen, jonka toistettavuus on kiinni muun muassa pyöröhaihduttimen rakenteesta, alipaineesta ja haihdutettavan liuoksen määrästä. Tärkeä syy pyöröhaihduttimen vaihtamiseksi kiinteäfaasiuuttoon oli myös, että haluttiin varmistua jokaisen synteessin liuotinjäämien pysyvän sallitun rajan alapuolella.

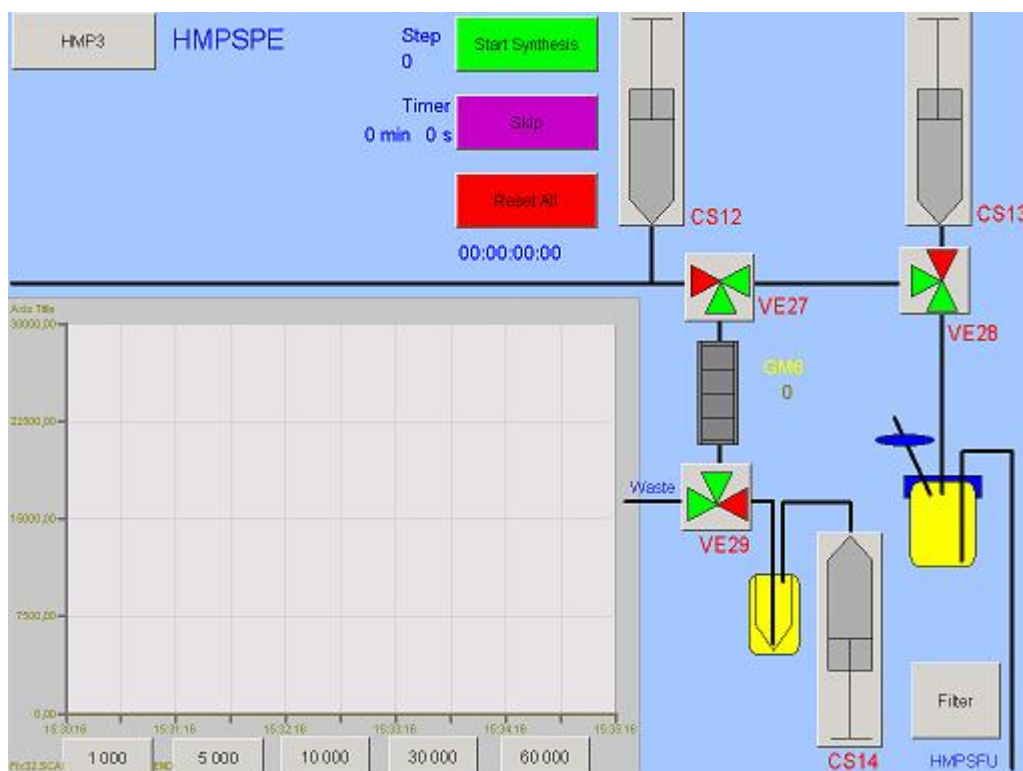
Kiinteäfaasiuutto on toistettava menetelmä loppuformulointiin. Ainoa muuttuva tekijä ja siten myös synteisiin vaikuttava tekijä on itse kolonni. Kolonnit eivät ole aivan tasalaatuisia, jolloin tiiviimmin pakattu kolonni antaa suuremman vastapaineen puhdistuksessa ja tällöin synteessin kesto pitenee. Kolonnit valmistellaan huuhtelemalla ne etanolilla ja vedellä, jolloin voidaan seuloa pois ne kolonnit, jotka antavat liikaa vastapainetta. Näin formuloinnista saadaan ajallisesti toistettava.

Kiinteäfaasiuuton pohjaksi otettiin jo toisessa merkkiaineessa käytössä ollut menetelmä, jota lähdettiin muokkaamaan tähän työhön sopivaksi. Aluksi käytössä oli C-18-kolonni, joka vaihdettiin testien jälkeen C-18 light-kolonneihin. Etanolin määrää ruiskuissa laskettiin 3 millilitrasta 1,5 millilitraan, koska huomattiin sen estävän radiolyysiä yhtä tehokkaasti kuin suurempikin määrä.

Paineilmakäyttöisten ruiskutelineitten paineet säädettiin jokaiselle ruiskulle erikseen.

5.4.1 SPE-moduuli

Kiinteäfaasiuuttoa varten rakennettiin kaappiin oma moduulinsa. Moduuli kiinnitettiin preparatiiviseen HPLC-systeemiin, jolloin kerätty tuotefraktio saadaan kerättyä suoraan moduuliin. HPLC-systeemin jälkeisellä kolmitieventtiilillä voidaan liuos jakaa joko jättepulloon tai SPE-moduuliin. SPE-moduuli on kytketty PEEK-letkulla kolmitieventtiiliin. Moduuliin kiinnitetään kaksi 60 ml:n ruiskua, ruisku 1 ja ruisku 2 (kuvassa 9: CS 12 ja CS 13). Kolmas kiinnitettävä ruisku 3 on 20 ml:n ruisku (kuvassa 9: CS 14). Moduulissa on kiinteät telineet 1 ml:n etanoliampullille ja SPE-kolonnille. Lisäksi moduulissa on irroitettava teline tuotteen välipulolle. Välipullo on astia SPE-kolonnin ja loppuformulointiruiskun välissä, johon lopputuote eluoidaan kolonnista. Välipulloja on eri kokoisia ja niitä valitaan tehtävän synteessin mukaan. SPE-kolonnina käytetään Watersin Sep-Pak C18 light-kolonnia.



Kuva 9: SPE-moduuli

5.4.2 Puhdistus SPE-moduulilla

Tuotefraktio kerätään HPLC-systeemistä kolmitieventtiin positiota vaihtamalla. Fraktio kerätään ruisku 1:een, johon on valmiiksi ladattu 30 ml steriiliä vettä ja 1,5 ml etanolia. Keräys- ja huuhteluruiskujen vesi laimentaa seosta, jolloin tuote saadaan jäämään SPE-kolonneihin. Etanolia lisättiin keräys- ja huuhteluruiskuun, koska tuotteen radiokemiallinen puhtaus ei ollut riittävä. Etanoli estää loppuformuloinnissa tapahtuvaa radiolyysiä. Kun fraktio on kerätty ruiskuun, painetaan se SPE-kolonneihin. Kolonneihin jäänyt fraktio huuhdellaan ruisku 2:een ladatulla 30 ml vesi 1,5 ml etanoli seoksella, jolloin saadaan huuhdeltua ajoliuosjäämät lopputuotteesta. Huuhdeltu fraktio eluoidaan kolonnista painamalla siitä ensin moduuliin kiinnitettyyn ampulliin lisätty 1 ml etanolia, jota seuraa ruisku 3:een ladattu fosfaattipuskuri. Fraktio eluoidaan kolonnista välipulloon, johon on lisätty 1 ml propyleeniglykolia. Lopuksi tuote imetään steriilisuodatusmoduulin ruiskuun, josta se painetaan suodattimen läpi lopputuotepulloon.

6 TULOKSET JA POHDINTA

Työn tavoitteet saavutettiin niiltä osin, mitä alunperin haettiin. [¹¹C]6-OH-BTA-1-merkkiaineen tuotanto saatiin siirrettyä uuteen laboratorioon. Merkkiaineen saanto saatiin halutulle tasolle säteilytysparametrejä muuttamalla, eli alkuaktiivisuutta lisäämällä.

Aika (min.)	Virta (µA)	Lämpötila (°C)	Saanto (MBq)
20	20	20	300-500
20	30	40	900-1100
30	40	60	1300-1700

Taulukko 1: Säteilytysparametrit ja saanto

Alkuaktiivisuuden lisääminen korkeammilla säteilytysvirroilla toi mukanaan uusia ongelmia, joita ratkaistiin lisäämällä ammoniakkiloukku.

Ammoniakkiloukku toimi odotetusti ja ammoniakin haitat synteasilaitteelle ja itse synteesiin saatiin poistettua. Steriilisuodattimeen jäävän radioaktiivisuuden määrää saatiin laskettua vaihtamalla steriilisuodatukseen eri suodatin. SPE-formulointi osoittautui toistettavaksi. Liuotinjäämät pysyivät selvästi alle niille määrättyjen rajojen ja ainoa ongelma, joka nousi esille oli SPE-kolonnien laadunvaihtelu. Jotkin kolonnit antoivat suuremman vastapaineen, jolloin loppuformulointiin käytettävä aika piteni, joskus jopa merkittäviä aikoja puoliintumisaikaa silmälläpitäen.

Synteesi (mitattu liuotin)	Kiinteäfaasiuutto Liuotinjäämät (µg/ml)	Pyöröhaihdutin Liuotinjäämät (µg/ml)
[¹¹ C]6-OH-BTA-1 (metanoli)	18	
[¹¹ C]6-OH-BTA-1	32	
[¹¹ C]6-OH-BTA-1	13	
[¹¹ C]PBR28 (asetonitrili)	1,5	
[¹¹ C]PBR28	4,9	
[¹¹ C]PBR28	8,6	
[¹¹ C]PBR28 (asetonitrili)		740
[¹¹ C]PBR28		494
[¹¹ C]PBR28		489
[¹¹ C]Raclopride (asetonitrili)		88
[¹¹ C]Raclopride		66
[¹¹ C]Raclopride		130

Taulukko 2: Liuotinjäämät kiinteäfaasiuutolla ja pyöröhaihduttimella

Lähtöaineen muuttaminen hiilidioksidista metaaniin ja siitä aiheutuva muutos märkämenetelmästä kaasufaasiin osoittautui odotettua hankalammaksi. Uudessa menetelmässä tuotteen ominaisradioaktiivisuus on kymmenkertainen verrattuna vanhaan, mutta se aiheuttaa omalta osaltaan ongelmia tuotteen radiokemialliseen puhtauteen. Radiolyysiä estämään ja sitä kautta radiokemiallista puhtautta parantamaan lisättiin SPE-formulointiyksikön ruiskuihin etanolia.

LÄHTEET

1. Ciprian Catana, Alexander R. Guimaraes, Bruce R. Rosen: PET and MR Imaging: the Odd couple or match made in heaven?: Journal of nuclear Medicine March 14, 2013 as doi: 10.2967/jnumed.112.112771
2. Säteilyn käyttö, STUK, 2004, toim: Olavi Pukkila s.240
3. Säteilyn käyttö, STUK, 2004, toim: Olavi Pukkila s.225
4. Buckley, K.R., Huser, J., Jivan, S., Chun, K.S., Ruth, T.J., ¹¹C-methane production in small volume, high pressure gas targets, Radiochim. Acta88(2000) 201–205
5. State of Art in ¹¹C Labelled Radiotracers Synthesis: Current Medicinal Chemistry 2008: volume 15: issue 3: M. Szlosek-Pinaud, M. Allard, E. Fouquet and D. James
6. Alkeishiukkasten maailma: Kvarkeista aikojen alkuun: Toimittaja Risto Raitio: Suomen fyysikkoseura, 1982, tähtitieteellinen yhdistys URSA
7. Pro Gradu, Semi Helin, 2003: Hiili-11:n käyttö radiolääkeaineissa
8. Subjective Cognition and Amyloid Deposition Imaging: a Pittsburgh Compound B Positron Emission Tomography Study in Normal Elderly Individuals: Audrey Perrotin; Elizabeth C. Mormino, BS; Cindee M. Madison, MS; Amynta O. Hayenga, BS; William J. Jagust, MD: Arch Neurol. 2012;69(2):223-229. doi:10.1001/archneurol.2011