

# АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ МОДУЛЬ СИНТЕЗА L-[<sup>11</sup>C-МЕТИЛ]МЕТИОНИНА: ДИЗАЙН, ХАРАКТЕРИСТИКИ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПЭТ

© 2023 г. О. Ф. Кузнецова, В. В. Орловская, Д. Д. Ваулина,  
В. Ю. Оболенцев, А. С. Демьянов, Р. Н. Красикова\*

*Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН,  
197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12а  
\*e-mail: raisa@ihb.spb.ru*

Поступила в редакцию 14.07.2023, после доработки 14.07.2023, принята к публикации 27.08.2023

Разработан автоматизированный модуль синтеза L-[<sup>11</sup>C-метил]метионина – широко известного ПЭТ радиотрейсера для визуализации опухолей мозга. Модуль отвечает современным требованиям производства радиофармпрепаратов и радиационной безопасности. Благодаря оригинальной программе, созданной в среде программирования Delphi, модуль удобен для управления синтезом (user-friendly) и эксплуатации. Сервис модуля может поддерживаться собственными силами при минимальных временных и финансовых затратах. Модуль обеспечивает получение L-[<sup>11</sup>C-метил]метионина с высокой химической, радиохимической и энантиомерной чистотой и радиохимическим выходом 30% (от активности [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub>, без поправки на распад).

**Ключевые слова:** позитронная эмиссионная томография, углерод-11, радиофармпрепараты, L-[<sup>11</sup>C-метил]метионин, автоматизированный модуль.

**DOI:** 10.31857/S0033831123060096, **EDN:** NYUHSL

## ВВЕДЕНИЕ

Позитронная эмиссионная томография, совмещенная с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), с использованием меченых аминокислот в качестве радиофармпрепаратов (РФП) является высокоэффективной технологией прижизненного изучения и диагностики опухолей ЦНС, характеризующихся активацией транспорта и метаболизма аминокислот [1]. В клинической диагностике церебральных опухолей наибольшее применение получил L-[<sup>11</sup>C-метил]метионин ([<sup>11</sup>C]МЕТ), накопление которого в клетках опухоли обусловлено увеличением концентрации транспортеров LAT1. В отличие от широко распространенного радиотрейсера гликолиза [<sup>18</sup>F]ФДГ, [<sup>11</sup>C]МЕТ практически не накапливается серым веществом мозга и позволяет получать высококонтрастные изображения опухоли, а также визуализировать опухоли с низкой скоростью гли-

колиза. В ИМЧ РАН имеется более чем 30-летний опыт ПЭТ исследований с [<sup>11</sup>C]МЕТ для оценки распространенности и степени злокачественности церебральных опухолей, при планировании лучевой терапии или хирургического вмешательства, дифференциации рецидива опухоли и лучевого некроза и др. [2, 3]. Вместе с тем, несмотря на высокую диагностическую ценность, применение [<sup>11</sup>C]МЕТ в ПЭТ исследованиях имеет ряд ограничений. Это обусловлено как малым периодом полураспада изотопа (20,4 мин), так и сложностью автоматизации синтеза с углеродом-11, получаемым в газообразной форме – [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> или [<sup>11</sup>C]CH<sub>4</sub> – при облучении газовой мишени циклотрона. Основным методом синтеза [<sup>11</sup>C]МЕТ, предложенным в 1976 г. [4], является реакция S-метилирования соли тиолактона L-гомоцистеина, в которой метилирующим агентом является [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I. Последний получали так называемым «мокрым» методом [4],

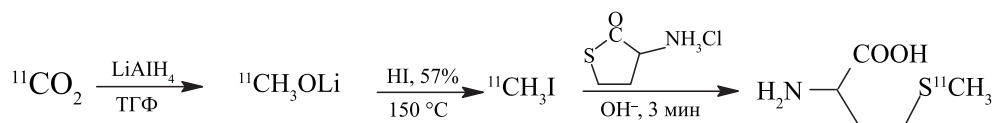


Схема 1. Синтез  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$  исходя из получения  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$  «мокрым» методом.

основанным на реакции восстановления  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  литийалюминийгидридом ( $\text{LiAlH}_4$ ) с последующей конверсией образовавшегося промежуточного продукта ( $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OLi}$ ) в  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OH}$  и далее в  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$  при нагревании с  $\text{HI}$  (57% водный раствор) (схема 1). В последние годы большое распространение получил газофазный метод, где  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$  получают путем свободнорадикального иодирования  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$  (получаемого из  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  или непосредственно в мишени циклотрона) парами иода при повышенных температурах [5, 6]. Для увеличения радиохимического выхода процесс иодирования проводят в режиме циркуляции. Метод циркуляции, защищенный патентом GE Health Care [7], используется в наиболее распространенных коммерчески доступных автоматизированных модулях для  $^{11}\text{C}$ -метилирования, таких как GE TRACERlab FX C Pro и Tracerlab FX 2C. Особенности автоматизации газофазного метода и различные модули синтеза подробно рассмотрены в обзоре [8]. По сравнению с «мокрым» методом газофазный метод обеспечивает более высокую мольную активность радиотрейсеров, что является обязательным условием для рецепторных ПЭТ исследований мозга, однако он является технически и аппаратно более сложным. В свою очередь «мокрый» метод позволяет использовать стартовые активности  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  более 3 Ки (111 ГБк), что вдвое больше активности  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$  в «метановой» мишени при газофазном методе [9]. В целом «мокрый» метод является менее затратным и более подходящим для получения радиотрейсеров метаболизма, таких как  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$ , *N*-метил- $^{11}\text{C}$ -холин, 1- $[^{11}\text{C}]\text{ацетат}$  [10] и других, где не требуется высокая мольная активность [1]. Вместе с тем, в отличие от газофазного метода, использование в «мокром» методе чувствительных к влаге воздуха и агрессивных реагентов [4] осложняет задачу автоматизации. Практически единственным коммерчески доступным модулем на основе «мокрого» метода является C-11 Pro2 (iPHASE, Австралия) [11], не получивший пока широкого распространения; в ряде работ для этой цели адаптированы модульные (Eckert Ziegler, Германия) [10] или кассетные

(Scintomics CRP, Германия) [12] платформы для автоматизации.

«Мокрый» метод получения  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$  применяется в ИМЧ РАН с 1990-х гг., начиная с роботизированного варианта [13] и далее получения радиотрейсера в модуле синтеза собственной разработки [14]. В последнем случае успешно использована on-line методика проведения как самой реакции  $^{11}\text{C}$ -метилирования, так и очистки  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$  на одноразовых картриджах, предложенная в работе [15].

Разработанный ранее модуль синтеза [14] позволяет получать  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$  с радиохимической чистотой более 99% и высокой энантиомерной чистотой ( $93.7 \pm 0.5\%$ ). Радиохимический выход составляет 25% (от активности  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ , без поправки на распад), что достаточно для обеспечения ПЭТ исследований в ИМЧ РАН (более 2000 пациентов в год). Модуль был создан на платформе автоматизированной системы синтеза Scintomics Hotbox I, Германия, снятой в настоящее время с производства и обслуживания. Для управления электронно-управляемыми вентилями (Bürkert, Германия), обеспечивающими перенос жидких и газообразных реагентов по тефлоновым линиям, использована программа VARIOSWITCH<sup>32+</sup>. Автоматическая промывка линий осуществлялась с помощью прецизионного шприцевого насоса и программы VARIODISP8. Вместе с тем многие операции синтеза проводились в дистанционно-управляемом режиме. Так, скорость потока газа регулировалась вручную внешним регулятором потока (Supelco, США), равно как и температура реакторов, управление подъемным устройством и др. Необходимость постоянного контроля параметров в процессе синтеза, особенно ручного регулирования скорости потока на разных этапах, снижает надежность процесса и не удовлетворяет современным требованиям синтеза РФП (Quality Assurance). Задачей данной работы являлась разработка полностью автоматизированного модуля синтеза  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$ , отвечающего современным требованиям, удобного в управлении (user-friendly) и эксплуатации, сервис которого мо-

жет поддерживаться собственными силами при минимальных временных и финансовых затратах.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и реактивы. Все перечисленные ниже коммерчески доступные растворители и реагенты – L-гомоцистеин тиолактон гидрохлорид (99%, Toronto Research Chemicals Inc., Canada), гидроксид натрия (99%, Merck, Германия), этанол (99%, Fluka, Швейцария), тетрагидрофуран (99%, без стабилизатора, Sigma–Aldrich, США), литий-алюмогидрид (95%, Sigma–Aldrich, США), иодистоводородную кислоту (57%, Sigma–Aldrich, США), дигидрофосфат натрия (PharmGrade, PanReac, Испания), моногидрофосфат натрия (PharmGrade, PanReac, Испания), ацетонитрил (сорт 0, Криохим, Россия), хлорную кислоту (70%, Sigma–Aldrich, США) – использовали без дополнительной очистки. Одноразовые обращенно-фазовые картриджи Sep-Pak tC18 и Sep-Pak C18 (Waters, США) активировали последовательной промывкой 4 мл EtOH и 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$ ; для стерилизации использовали стерилизующие фильтры 0.22  $\mu\text{m}$  (Millipore, США); сорбенты – аскарит (20–30 mesh, Sigma–Aldrich, США) и сикапент (Supelco, США) – помещали в одноразовые пластиковые колонки объемом 3 мл (Supelco, США).

Оборудование. Циклотрон GE PETtrace 4 (GE HealthCare, США); горячие камеры производства Comescer, Италия: BBST (класс C) и MANUELA (Shielded Laminar Flow Isolator, класс A); изотопный калибратор Curiementor-2 (PTW, Freiburg, Германия); жидкостной хроматограф Gilson (Великобритания), УФ детектор Gilson-116 и детектор радиоактивности Beckman-170; программное обеспечение хроматографа МультиХром (Амперсенд, Россия).

Компоненты модуля. Спиралевидная трубка из нержавеющей стали для улавливания  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  длиной 1.5 м; актуаторы LAS 3-1 (HIWIN, Тайвань); стеклянный шприц для промывки линий доставки реагентов (Hamilton, США), управляемый актуатором LAS 3-1; трубки PTFE 1/8 и 1/16 дюймов (GE HealthCare, США); соленоидные электромагнитные двух- и трехходовые вентили (24 V, Bürkert, Германия); регулятор расхода газа PPG-10 (Элтотприбор, Россия); нагревательные блоки (Anatech, Швеция); термопары (Watlow, США); реакторы (Anatech,

Швеция); вентиль для ручного переключения между реакторами (Bola, Германия); вайлы с V-образным дном объемом 5 и 10 мл (Sigma-Aldrich, США); технический фен DAF 2200 (Daewoo, Южная Корея).

Управление модулем. Компьютер с операционной системой Windows XP (Samsung, Южная Корея); среда программирования Delphi (США); USB-платы 4751, 4711A, 4718 (Advantech, Тайвань).

Синтез  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$ . В синтезе  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$  использовали условия (количества и объемы реагентов), описанные в работе [14]. Углерод-11 ( $T_{1/2} = 20.4$  мин) в химической форме  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  получали по ядерной реакции  $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$  при облучении смеси азота и кислорода (99/1 v/v) протонами 16.4 МэВ в газовой мишени (ток пучка 53 мкА, время облучения 30–40 мин); радиохимический синтез проводили в автоматизированном модуле, установленном в горячей камере BBST (рис. 1).  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  кристаллизовали при  $-196^\circ\text{C}$  в погруженной в жидкий азот спиралевидной трубке и далее при нагревании этой «ловушки» феном до комнатной температуры переносили током азота (12 мл/мин) в реактор с раствором  $\text{LiAlH}_4$  (0.1 М) в THF (0.15 мл). После удаления растворителя при  $150^\circ\text{C}$  в реактор добавляли 57%-ный водный раствор HI (0.7 мл), и образующийся  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$  в течение 4 мин транспортировали током азота (8 мл/мин) на одноразовый картридж tC18 Plus с нанесенным непосредственно перед синтезом субстратом (60 мкл водного раствора гидрохлорида тиолактона гомоцистеина (40 мг/мл) и 140 мкл водно-этанольного (1 : 1) 0.7 М NaOH. Полученный в режиме on-line метилирования  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$  элюировали 0.05 М раствором дигидрофосфата натрия (6 мл), и элюат пропускали через картридж C18 Plus и стерилизующий мембранный фильтр 0.22 мкм в стерильный флакон, заполненный 4 мл 0.07 М раствора моногидрофосфата натрия, что обеспечивало необходимую для внутривенного введения изотоничность и pH. Последнюю стадию (элюирование и стерилизацию) проводили в условиях класса А в горячей камере MANUELA. Конечный раствор барботировали через стерильный фильтр током азота для удаления следов непрореагировавшего  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ . Активность продукта измеряли на изотопном калибраторе Curiementor-2 (PTW Freiburg, Германия).

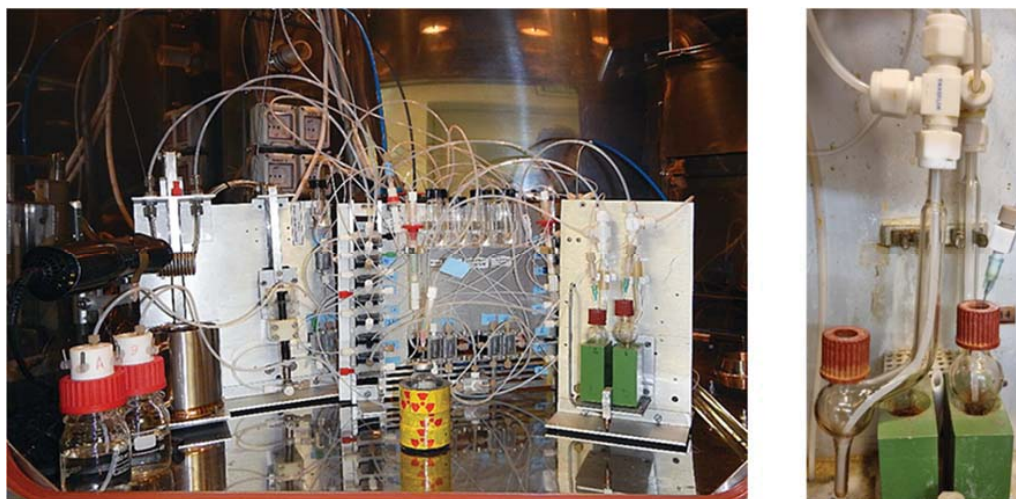


Рис. 1. Общий вид модуля (слева) и реактора (справа) для синтеза  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$ .

ВЭЖХ анализ  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$ . Радиохимическую, химическую и энантиомерную чистоту препарата определяли методом радиоВЭЖХ. Идентификацию осуществляли путем сопоставления времен удерживания  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$  и нерадиоактивного D,L-MET с учетом времени прохождения пробы между детекторами (0.3 мин). Для определения радиохимической чистоты препарата использовали колонку Luna (SCX) (Phenomenex, США),  $25 \times 0.46$  см, элюент – 0.01 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (рН 3.0) и MeCN (50/50 v/v), скорость потока 2.5 мл/мин. Времена удерживания составили для D,L-MET  $5.6 \pm 0.5$  мин, для  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$  –  $5.9 \pm 0.5$  мин. Энантиомерную чистоту определяли методом хиральной ВЭЖХ, колонка Crownpak-CR (Daicel, Япония),  $0.4 \times 15$  см, элюент – водный раствор  $\text{HClO}_4$  (рН 2.0), скорость потока 0.8 мл/мин. Время удерживания L- $[^{11}\text{C}]\text{MET}$  составляло  $4.7 \pm 0.5$  мин.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

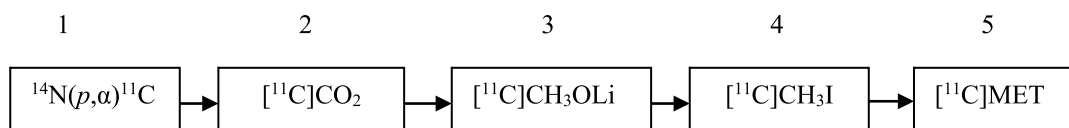
При разработке автоматизированного модуля синтеза  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$  мы базировались на предыдущих результатах ИМЧ РАН по синтезу  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$  [14] и использовали те же параметры химических реакций (схема 1), количества и объемы реагентов, методики подготовки картриджей для твердофазной экстракции. Принципиально важным для автоматизации является использование on-line  $^{11}\text{C}$ -метилирования и очистки  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$  на двух последовательно соединенных одноразовых картриджах для твердофазной экстракции – пионерская технология, пред-

ложенная итальянскими учеными [15] и успешно адаптированная в ИМЧ РАН [14]. В сравнении с  $^{11}\text{C}$ -метилированием в растворе [4, 13] on-line технология имеет целый ряд преимуществ: проведение метилирования при комнатной температуре без необходимости использования реакционного сосуда и нагревателя, быстрота реакций, использование легко заменяемых одноразовых картриджей и главное – простота автоматизации. Эти преимущества особенно важны, учитывая малый период полураспада углерода-11. Эффективность on-line методов зависит от скорости переноса как газообразных ( $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ ) реагентов, так и буферных растворов на стадии очистки, а также времени каждой операции – параметров, контролируемых программой автоматизированного синтеза.

В соответствии со схемой 1 технология синтеза в автоматизированном модуле может быть разделена на 5 этапов (схема 2). Необходимость работы с высокорadioактивным короткоживущим изотопом в газообразной форме ( $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ ,  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ ) предъявляет особые требования к предотвращению потерь радиоактивности на каждой стадии процесса как для обеспечения радиационной безопасности персонала, так и для достижения высокого радиохимического выхода.

### *Аппаратное обеспечение (hardware)*

Ввиду ограниченного объема горячих камер (hot cells) важным требованием к конструкции модуля



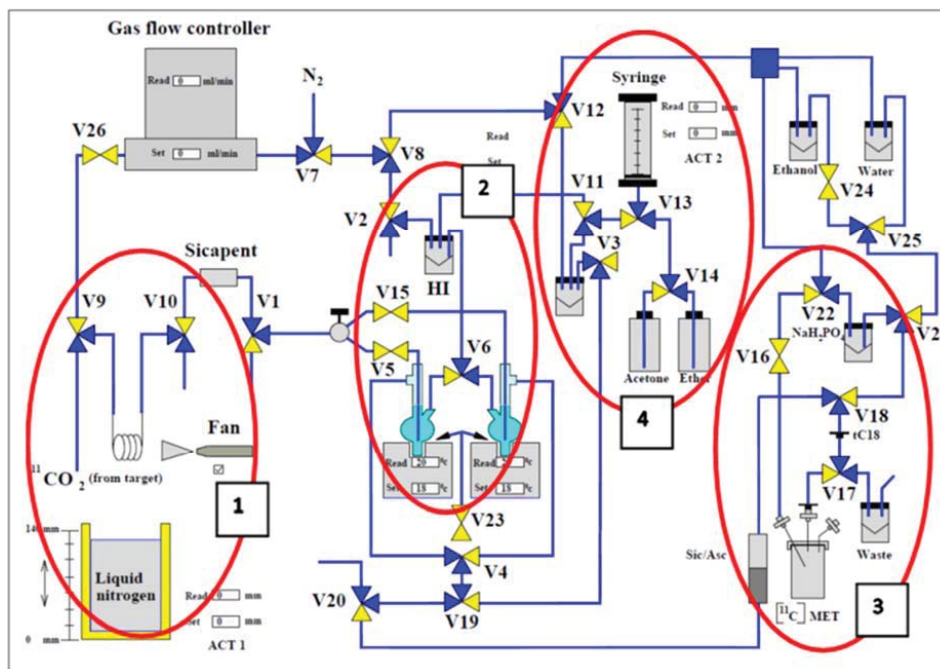
**Схема 2.** Ключевые этапы синтеза [<sup>11</sup>C]MET: 1 – генерирование [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> в газовой мишени циклотрона, 2 – транспортировка [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> на вход модуля синтеза и его концентрирование при –196°С, 3 – восстановление [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> в [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>OLi под действием LiAlH<sub>4</sub> при комнатной температуре с последующим испарением растворителя (THF) при нагревании, 4 – получение [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I добавлением 57%-ного водного раствора HI, 5 – on-line <sup>11</sup>C-метилирование гидрохлорида тиолактона гомоцистеина с образованием [<sup>11</sup>C]MET, очистка и получение инъекционной формы.

синтеза является компактность и удобство размещения. С учетом этого была предложена модульная концепция, где компоненты модуля размещены и закреплены на трех алюминиевых пластинах (платформах), как представлено на рис. 1. Модуль установлен в горячей камере BBST (Comeser, Италия) с внутренними размерами 700 × 600 × 580 мм. На первой пластине закреплена стальная спиралевидная ловушка для выделения [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> из облученного мишенного газа и подъемное устройство с сосудом Дьюара для жидкого азота, движение которого обеспечивает линейный актуатор LAS 3-1 (ACT 1, рис. 2). Второй актуатор (ACT 2, рис. 2) предназначен для управления движением штока стеклянного шприца, используемого на стадии промывки линий растворителями. Рядом с ловушкой установлен фен

для быстрого нагревания ловушки на стадии размораживания и десорбции [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> в токе азота.

На второй платформе закреплены 26 соленоидных электромагнитных двух- и трехходовых вентилях Bürkert (24 V), соединённых тефлоновыми трубками, а также стеклянные V-образные сосуды для растворителей, реагентов и буферных растворов. На третьей платформе расположены два нагревательных блока с помещенными в них реакторами для синтеза [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I. Управление всеми компонентами модуля осуществляется управляющей программой, написанной в среде программирования Delphi.

Блок-схема автоматизированного модуля синтеза [<sup>11</sup>C]MET приведена на рис. 2, где выделены три основных блока, соответствующие ключевым этапам получения [<sup>11</sup>C]MET (схема 2), а также блок 4



**Рис. 2.** Блок-схема автоматизированного модуля синтеза [<sup>11</sup>C]MET.

**Таблица 1.** Управление основными этапами автоматизированного синтеза  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$ 

Этап синтеза/процесс	Активация элементов модуля	Температура, °C	Скорость потока, мл/мин	Время, с
Блок 1				
Охлаждение ловушки перед выпуском $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ из мишени	Актуатор 1, вверх	Ловушка – –196°C	0	20
Доставка $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ из мишени и вымораживание в ловушке	V9–V10	Ловушка – –196°C	Скорость потока определяется давлением в мишени	380
Извлечение ловушки из сосуда Дьюара с жидким азотом	Актуатор 1, вниз	Ловушка – комнатная		
Транспортировка $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ в реактор 1 и барботирование через раствор $\text{LiAlH}_4$ в THF	V26–V10–V9–V1–V5–фен включен	–	12	300
Блок 2				
Удаление ТГФ	V26–V10–V9–V1–V5–фен включен	Реактор 1 – 150°C	150	270
Добавление HI в реактор 1, получение $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$	V7–V8–V2–V6	Реактор 1 – 150°C	150	6
Блок 3				
On-line доставка $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ на картридж tC18; $^{11}\text{C}$ -метилирование	V26–V9–V10–V1–V5–V4– V19–V20–V18–V17	Реактор 1 – 150°C	8	250
Элюирование $[^{11}\text{C}]\text{MET}$ с картриджа tC18 0.05 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ и далее через картридж C18 и стерильный фильтр в стерильный флакон*	V7–V8–V12–V22–V18–V17	–	150	120
Барботирование раствора $[^{11}\text{C}]\text{MET}$ азотом через стерилизующий фильтр*	V7–V8–V12–V22–V16	–	150	120

\* Проводится в горячей камере MANUELA, класс А

для промывки тefлоновых линий перед синтезом и по его окончании. Все компоненты модуля интегрированы в единую программу и объединены общим интерфейсом для связи с управляющим компьютером; алгоритм процесса приведен в табл. 1.

Блок 1 выполняет функцию выделения радионуклида  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  из облученного мишенного газа путем кристаллизации в спиралевидной ловушке, погруженной в жидкий азот. Критичным на этой стадии является достаточно высокое (9 бар) давление газа в мишени после облучения. Установленный в линии доставки из мишени регулятор потока газа позволяет снизить скорость потока, обеспечивая

тем самым более высокую эффективность вымораживания  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  в ловушке. Для более полного извлечения радиоактивности из мишени этот процесс повторяется дважды. По нашим оценкам, проскок  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  в этих условиях составляет 15–20%. После извлечения ловушки из сосуда Дьюара она выдерживается до комнатной температуры и по истечении 142 с нагревается феном; высвобождающийся при этом радиоактивный газ в токе азота поступает в блок 2 (рис. 2) в один из двух реакторов при барботировании через раствор  $\text{LiAlH}_4$  в ТГФ (0.15 мл). Ввиду малого объема раствора скорость потока на этой стадии является критичной и поддерживается

на уровне 12 мл/мин. Другим важнейшим фактором является высокая чувствительность  $\text{LiAlH}_4$  к влаге воздуха, поэтому в линии доставки  $^{11}\text{C}\text{CO}_2$  между V10 и V1 установлена одноразовая пластиковая колонка, заполненная осушителем сикапентом (пентоксид фосфора с индикатором влажности), которая заменяется по мере необходимости.

Блок 2 – реакционный блок, обеспечивающий протекание основных стадий синтеза  $^{11}\text{C}$ -метилирующего агента: восстановление  $^{11}\text{C}\text{CO}_2$  до  $^{11}\text{C}$ -метоксида лития и далее, после добавления 57% HI, последовательное образование  $^{11}\text{C}\text{CH}_3\text{OH}$  и  $^{11}\text{C}\text{CH}_3\text{I}$  (схема 1). Конструкция реактора (рис. 1, справа), разработанного фирмой Anatech для роботизированного синтеза  $^{11}\text{C}\text{MET}$  [13], заслуживает особого рассмотрения. Он представляет собой шарообразный двугорлый стеклянный сосуд с пальцеобразным отростком в нижней части диаметром 6 мм и длиной 30 мм; размеры отростка совпадают с размерами отверстия нагревательного блока, благодаря чему достигается быстрый нагрев реакционной смеси. На резьбу GL14 более короткого горла реактора навинчивается крышка с отверстием и тефлоновой прокладкой (септой) для ввода реагентов с помощью иглы, соединенной с тефлоновой трубкой 1/16 дюйма. Второе (более длинное и узкое) горло снабжено тефлоновым тройником, позволяющим разделить линию доступа в реактор на два направления. К верхнему и боковому входам тройника подведены тефлоновые трубки 1/8 дюйма, одна из которых, опущенная до дна реактора, предназначена для доставки  $^{11}\text{C}\text{CO}_2$  в токе азота. Поскольку отросток реактора вмещает практически весь объем раствора  $\text{LiAlH}_4$  в ТГФ (0.15 мл), достигается барботирование газа через весь столб жидкости и при тщательном контроле потока (12 мл/мин) – эффективное улавливание  $^{11}\text{C}\text{CO}_2$  в малом объеме растворителя. Боковой отвод тройника служит для отгонки образующегося  $^{11}\text{C}\text{CH}_3\text{I}$ , а также отведения паров ТГФ при его испарении.

Следующий этап включает полное удаление растворителя при  $150^\circ\text{C}$  и добавление в реакционный сосуд 57%-ного водного раствора HI. Образующийся при этой же температуре  $^{11}\text{C}\text{CH}_3\text{I}$  переносится через боковой отвод тройника током газа 8 мл/мин и поступает в Блок 3 на картридж tC18 Sep-Pak для получения  $^{11}\text{C}\text{MET}$  реакцией on-line  $^{11}\text{C}$ -метилирования.

Для удаления непрореагировавшего  $^{11}\text{C}\text{CO}_2$  в линии транспортировки  $^{11}\text{C}\text{CH}_3\text{I}$  установлена одноразовая пластиковая колонка, заполненная сикапентом и аскаритом (ascarite – гидроксид натрия со стабилизатором). Нанесение субстрата (водно-этанольный раствор гидрохлорида тиолактона гомоцистеина и гидроксида натрия) на tC18 Sep-Pak и установка картриджа в модуль проводятся перед окончанием облучения. Как было показано, скорость потока 8 мл/мин является оптимальной для on-line  $^{11}\text{C}$ -метилирования. По окончании метилирования полученный  $^{11}\text{C}\text{MET}$  элюируют с Sep-Pak tC18 6 мл 0.05 М раствора  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , и полученный элюат пропускают через картридж Sep-Pak C18 и установленный «в линию» стерильный фильтр 0.22 мкм для on-line стерилизации. Раствор собирают в стерильный флакон объемом 20 мл, заполненный 4 мл 0.07 М раствора  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  и установленный в горячей камере MANUELA, класс стерильности А. Для удаления следов непрореагировавшего  $^{11}\text{C}\text{CH}_3\text{I}$  полученный раствор барботируют током азота через иглу и стерилизующий фильтр 0.22 мкм. Общий объем готового для инъекций раствора, pH и изотоничность которого удовлетворяют требованиям РФ Фармакопеи, составляет 10 мл.

Блок 4 предназначен для промывки модуля; для этой цели разработана отдельная программа, состоящая из трех подпрограмм и запускаемая непосредственно перед синтезом и по его окончании. Промывка необходима для удаления агрессивных реагентов (HI) и обеспечения сухости соединительных тефлоновых линий и реактора ввиду чувствительности  $\text{LiAlH}_4$  к влаге воздуха. Промывку проводят последовательно ацетоном и диэтиловым эфиром, при этом реакторы нагревают до  $80$  и  $50^\circ\text{C}$  соответственно и продувают азотом. Для набора и выпуска растворителей используют стеклянный шприц, шток которого подсоединен к актуатору 2 (АСТ 2, рис. 2). Это техническое решение является простым и экономичным в отличие от ранее разработанного модуля синтеза [14], где на стадии промывки применялся дорогостоящий прецизионный шприцевой насос с восьмиходовым ротационным вентиляем. Линии блока 3, где проводятся синтез, очистка и получение инъекционной формы  $^{11}\text{C}\text{MET}$ , промывают последовательно водой и этанолом; их подают в систему через сосуд, предназначенный для раствора  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (рис. 2). Процесс заканчивается про-

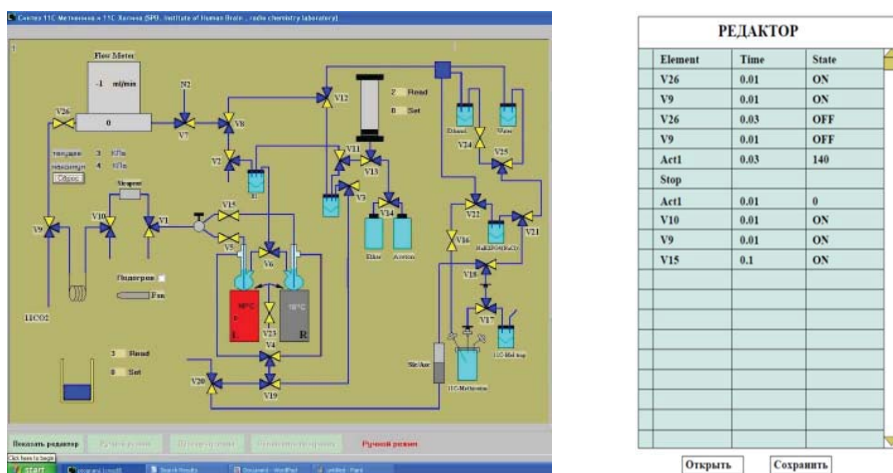


Рис. 3. Вид дисплея ноутбука во время синтеза  $[^{11}\text{C}]\text{MET}$  и программа-интерпретатор команд (редактор).

дувкой азотом линии доставки  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ , начиная с ловушки, и остальных, задействованных при получении  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ . Непосредственно перед синтезом проводят контроль герметичности всей системы и соответствия потоков газа заданным значениям с помощью выполнения программы test flow.

#### Программное обеспечение модуля (software)

При разработке программного обеспечения мы исходили из следующих требований:

- управление элементами модуля (вентили, регулятор расхода газа, актуаторы и т.д.) должно осуществляться автоматически из одной программы, как с помощью специально написанной подпрограммы-интерпретатора (редактора), встроенной в основную программу, так и в ручном режиме из основной программы. Погрешность отклика по времени на событие изменения параметров элементов управления модулем (разница между фактическим и заданным временем) должна быть не более 0.2 с;

- блок-схема модуля должна отображаться на дисплее компьютера при выполнении основной программы с визуализацией изменения параметров элементов управления (рис. 3) как изменение цвета вентилях при их переключении, отображение движения элементов (например, штока шприца), положения актуаторов и др. в реальном времени. Кроме удобства для оператора-радиохимика это позволяет соблюдать полное соответствие процесса синтеза разработанному и утвержденному лабораторному регламенту (quality assurance), выявлять причины

неудачных синтезов и своевременно устранять технические неисправности.

Оригинальные программы для управления модулем написаны в среде программирования Delphi на ноутбуке с минимальными требованиями к аппаратной части. В качестве плат ввода-вывода сопряжения ноутбука с системой управления модулем по порту USB 2.0 были использованы следующие платы: USB-4751, USB-4711A и USB-4718 фирмы Advantech. USB 4751 – 48 каналов дискретного ввода-вывода по TTL-логике, USB-4711A – 8 входных аналоговых сигналов и 2 выходных аналоговых сигнала, USB-4718 – 8 термодпар с выбором типа J, K, T, E, R, S и В. Выбор USB-плат фирмы Advantech основан на том, что их программное обеспечение легко адаптируется в среду Delphi.

Для оптимизации кодирования процедуры открытия и закрытия вентилях был создан визуальный компонент Valve с набором нужных свойств и методов. В свойства данного компонента включены следующие параметры: двух- или трехходовой вентиль, его ориентация согласно схеме (рис. 3), размеры в пикселях. Кроме того, компонент Valve имеет два метода – open и close.

Отдельная программа разработана для управления регулятором расхода газа PPG-10 отечественного производителя «Элтотприбор» (flow controller, рис. 3). Его электропитание осуществляется от двух источников DR-4515 ( $\pm 15\text{ В}$ ). Максимальный поток газа-носителя (азота) для данного регулятора составляет 150 мл/мин. Для задания нужного потока основная программа посылает команду



на плату USB-4711A – установить напряжение на выходе контакта A00 (допустим, 3 В). Это значит, что установленное значение потока составит  $150 \times (3 \text{ В}) / (5 \text{ В}) = 90$  мл/мин. Далее программа считывает значение напряжения с контакта АЮ и преобразует его в измеряемый поток в мл/мин. Выход регулятора на стабильный режим работы (когда установленный поток равен измеряемому) составляет 1–2 с, что очень важно для выполнения синтеза с использованием радиоактивных форм углерода-11.

Элементам управления компонентами модуля – правым и левым реакторами, регулятором расхода газа, подъемным устройством для сосуда Дьюара, шприцем для промывки – соответствуют два параметра. Параметр Set задает нужное значение для данного элемента, тогда как Read отображает величину (статус) выбранного параметра в режиме реального времени.

Редактор (интерпретатор команд, рис. 3) позволяет писать необходимые программы синтеза и промывки модуля, сохранять их, открывать и запускать их выполнение. Редактор написан на основе стандартного компонента Delphi TDBGrid и органически встроен в основную программу. В графу Element вводят имя элемента модуля (V1-V26 – клапаны; L/R-левый/правый реактор; АСТ1 – подъемное устройство для сосуда Дьюара; АСТ2 – шприц). В графу Time вводят время (мин), через которое после выполнения предыдущей команды будет выполнена следующая команда. В графу State вводят необходимое действие (ON или OFF для клапанов или для теплового фена, для других элементов модуля устанавливается нужное численное значение). Команда Stop, которая пишется только в столбце Element, приостанавливает выполнение последующих команд редактора на неопределенное время. Продолжить выполнение команд может только оператор-радиохимик. Необходимость в этой команде связана с возможностью возникновения событий, критичных для синтеза, при которых нужно ручное вмешательство оператора, например, конец облучения мишени.

За время эксплуатации модуля он зарекомендовал себя как надежная автоматизированная система для наработки важнейшего РФП –  $^{11}\text{C}$ ]МЕТ – в соответствии с потребностями ИМЧ РАН. Следует отметить, что модуль может быть легко адаптирован

для синтеза других РФП, например, *N*- $^{11}\text{C}$ -метил]холина – радиотрейсера для визуализации опухолей мозга и рака предстательной железы.

Таким образом, разработан компактный автоматизированный модуль синтеза  $^{11}\text{C}$ ]МЕТ, отвечающий современным требованиям производства и радиационной безопасности и обеспечивающий получение данного РФП с высокой химической, радиохимической и энантиомерной чистотой и радиохимическим выходом 30% (от активности  $^{11}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub>, без поправки на распад) при времени синтеза 15 мин с момента окончания облучения. Это позволяет производить до 600 мКи (22.2 ГБк) инъекционной формы  $^{11}\text{C}$ ]МЕТ за один синтез, что достаточно для ПЭТ исследований 7–8 пациентов при одновременной работе двух ПЭТ камер. Наличие двух реакторов и простота переключения между ними позволяет проводить поочередно два синтеза в день. Благодаря оригинальной программе, созданной в среде программирования Delphi, модуль удобен в управлении (user-friendly) и эксплуатации; сервис модуля поддерживается собственными силами при минимальных временных и финансовых затратах.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории радиохимии Гомзиной Н.А., Федоровой О.С. и Варшавской А.А. за предложения по оптимизации процесса синтеза  $^{11}\text{C}$ ]МЕТ в период эксплуатации модуля.

#### ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства образования и науки, тема FMMW-2022-0006.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Albert N.L., Weller M., Suchorska B., Galldiks N., Soffietti R., Kim M.M., la Fougère C., Pope W., Law I., Arbizu J., Chamberlain M.C., Vogelbaum M.,

- Ellingson B.M., Tonn J.C.* // *Neuro Oncol.* 2016. Vol. 18, N 9. P. 1199–1208.
2. *Скворцова Т.Ю., Бродская З.Л., Савинцева Ж.И., Гурчин А.Ф.* // *Лучевая диагностика и терапия.* 2014. Т. 5, № 2. С. 5–16.
  3. *Скворцова Т.Ю., Савинцева Ж.И., Захс Д.В., Тюрин Р.В., Гурчин А.Ф., Холявин А.И., Трофимова Т.Н.* // *Лучевая диагностика и терапия.* 2021. Т. 12, № 1. С. 49–58.
  4. *Comar D., Cartron J.-C., Maziere M., Marazano C.* // *Eur. J. Nucl. Med.* 1976. Vol. 1. P. 11–14.
  5. *Larsen P., Ulin J., Dahlström K., Jensen M.* // *Appl. Radiat. Isot.* 1997. Vol. 48. P. 153–157.
  6. *Link J.M., Krohn K.A., Clark J.C.* // *Nucl. Med. Biol.* 1997. Vol. 24. P. 93–97.
  7. *Larsen P., Orbe M., Dahlström, K., Ulin J.* US Patent 6008421. December 28, 1999.
  8. *Mock B.* // *Curr. Org. Chem.* 2013. Vol. 2013, N 17. P. 2119–2126.
  9. *Andersson J., Truong P., Halldin C.* // *Appl. Radiat. Isot.* 2009. Vol. 67. P. 106–110.
  10. *Boschi S., Lodi F., Cicoria G., Raul Ledesma J., Knopp R., Rizzello A., Di Pierro D., Trespidi S., Marengo M.* // *Appl. Radiat. Isot.* 2009. Vol. 67, N 10. P. 1869–1873.
  11. *Lee J. A.* // *Bull. Kor. Chem. Soc.* 2020. Vol. 41, N 8. P. 799–804.
  12. *Jolly D., Hopewell R., Kovacevic M., Li Q.Y., Soucy J.P., Kostikov A.* // *Appl. Radiat. Isot.* 2017. Vol. 121. P. 76–81.
  13. *Корсаков М.В., Красикова Р.Н., Соловьев Д.В.* // *Радиохимия.* 1994. Т. 36. С. 272–274.
  14. *Гомзина Н.А., Кузнецова О.Ф.* // *Биоорг. химия.* 2011. Т. 37, № 2. С. 216–222.
  15. *Pascal C., Bogni A., Iwata R., Decise D., Crippa F., Bombardieri E.* // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1999. Vol. 42. P. 715–724.

## Automated Synthesis Module for L-[<sup>11</sup>C-Methyl]methionine: Design, Performance, and Efficiency in PET

O. F. Kuznetsova, V. V. Orlovskaya, D. D. Vaulina,  
V. Yu. Obolentsev, A. S. Demyanov, and R. N. Krasikova\*

*Bechtereva Institute of the Human Brain, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 197022 Russia*  
\*e-mail: raisa@ihb.spb.ru

Received July 14, 2023; revised July 14, 2023; accepted August 27, 2023

An automated module for the synthesis of L-[<sup>11</sup>C-methyl]methionine, a well-known PET radiotracer for brain tumor imaging, has been designed. The module meets modern requirements for the production of radiopharmaceuticals and radiation safety; thanks to the original program created in the Delphi programming environment, module is convenient for the synthesis control (user-friendly) and operation; the service can be maintained on its own with minimal time and financial costs. The module ensures the production of L-[<sup>11</sup>C-methyl]methionine with high chemical, radiochemical and enantiomeric purity and a radiochemical yield of 30% (based on [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> activity, not decay corrected).

**Keywords:** positron emission tomography, carbon-11, radiopharmaceuticals, L-[<sup>11</sup>C-methyl]methionine, automated synthesis module