



**UNIWERSYTET  
MIKOŁAJA KOPERNIKA  
W TORUNIU**

Wydział Farmaceutyczny  
Collegium Medicum w Bydgoszczy

**Paweł Waśniowski**

**Radiosynteza wybranych znaczników do diagnostyki  
onkologicznej z wykorzystaniem techniki PET i dostosowanie ich  
produkcji do różnych typów dyspenserów**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk  
o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

**Promotor:  
dr hab. n. farm. Bogumiła Kupcewicz prof. UMK**

**Promotor pomocniczy:  
dr n. med. Jolanta Czucejko**

**Bydgoszcz 2023**



## *Podziękowania*

*Pragnę podziękować mojemu promotorowi Pani dr hab. Bogumile Kupcewicz za opiekę naukową, cenne uwagi i sugestie, zaangażowanie, ogromną życzliwość oraz wszelką pomoc i wsparcie jakie mi udzieliła w czasie dotychczasowej współpracy, podczas studiów doktoranckich i pisania niniejszej rozprawy doktorskiej.*

*Dziękuję mojemu promotorowi pomocniczemu Pani dr Jolancie Czuczejko, za opiekę merytoryczną, cenne uwagi i sugestie podczas pisania pracy doktorskiej.*

*Pragnę podziękować również wszystkim pracownikom Zakładu Medycyny Nuklearnej Centrum Onkologii w Bydgoszczy za liczne rozmowy i wielkie wsparcie w trakcie studiów i pisania pracy doktorskiej.*

*Szczególne podziękowania kieruję do najbliższych za okazane wsparcie i cierpliwość.*





# Spis treści

1. Wstęp teoretyczny .....	7
1.1. Metody produkcji radioizotopów do celów medycznych .....	7
1.1.1. Metoda reaktorowa .....	7
1.1.2. Metoda generatorowa .....	9
1.1.3. Metoda cyklotronowa .....	11
1.2. Radiofarmaceutyki .....	18
1.3. Biochemia wybranych radiofarmaceutyków .....	21
1.3.1. [ <sup>18</sup> F]FDG .....	21
1.3.2. [ <sup>18</sup> F]F-DOPA .....	24
1.3.3. ([ <sup>11</sup> C]-metyl)Cholina .....	25
1.3.4. [1- <sup>11</sup> C] Octan Sodiu .....	26
1.4. Fizyczne aspekty technik obrazowania wykorzystujące właściwości radiofarmaceutyków .....	27
2. Cele pracy .....	30
3. Materiały .....	32
3.1. Materiały do produkcji cyklotronowej .....	35
3.2. Materiały do produkcji [ <sup>18</sup> F]FDG .....	35
3.3. Materiały do produkcji [ <sup>18</sup> F]F-DOPA .....	37
3.4. Materiały do produkcji ([ <sup>11</sup> C]-metyl) Choliny .....	41
3.5. Materiały do produkcji [1- <sup>11</sup> C] Octanu Sodiu .....	43
3.6. Materiały do rozlewu serii wybranych radiofarmaceutyków .....	44
4. Metody .....	45
4.1. Cyklotronowa produkcja izotopów fluoru <sup>18</sup> F i węgla <sup>11</sup> C przy użyciu Cyklotron Eclipse 11 MeV .....	45
4.2. Automatyczna radiosynteza [ <sup>18</sup> F]FDG na module Explora FDG <sub>4</sub> .....	47
4.3. Analiza statystyczna wyników radiosyntezy [ <sup>18</sup> F]FDG .....	49
4.4. Automatyczna radiosynteza [ <sup>18</sup> F]F-DOPA na module Raytest SynChrom R&D .....	50
4.5. Automatyczna radiosynteza ([ <sup>11</sup> C]-metyl) Choliny na module ModularLab – PharmTracer .....	53
4.6. Automatyczna radiosynteza [1- <sup>11</sup> C] Octanu Sodiu na module Explora AC .....	55
4.7. Rozlew serii wybranych radiofarmaceutyków na różnych typach dispenserów .....	56
4.8. Metody użyte do przeprowadzenia kontroli jakości wybranych radiofarmaceutyków ....	60
4.8.1. [ <sup>18</sup> F]FDG .....	60
4.8.2. [ <sup>18</sup> F]F-DOPA .....	65
4.8.3. ([ <sup>11</sup> C]-metyl) Cholina .....	68

4.8.4.	[1- <sup>11</sup> C] Octan Sodu .....	70
5.	Wyniki i dyskusja.....	72
5.1.	Automatyczna radiosynteza [ <sup>18</sup> F]FDG na module Explora FDG4 .....	72
5.2.	Automatyczna radiosynteza [ <sup>18</sup> F]F-DOPA na module Raytest SynChrom R&D .....	80
5.3.	Automatyczna radiosynteza na module ([ <sup>11</sup> C]-metyl) Cholicy ModularLab - PharmTracer.....	101
5.4.	Automatyczna radiosynteza[1- <sup>11</sup> C] Octanu Sodu na module Explora AC.....	103
5.5.	Czas rozlewu serii wybranych radiofarmaceutyków na różnych typach dyspenserów ...	108
5.6.	Wyniki i czas kontroli jakości wybranych radiofarmaceutyków.....	119
5.7.	Całkowity czas oraz spadek aktywności w trakcie przygotowania wybranych radiofarmaceutyków.....	167
6.	Wnioski.....	209
7.	Streszczenie .....	214
9.	Spis tabel .....	220
10.	Spis rycin.....	221
11.	Spis skrótów .....	225
12.	Bibliografia .....	227
13.	Załączniki .....	239
13.1.	Życiorys zawodowy .....	239
13.2.	Publikacje .....	244

# 1. Wstęp teoretyczny

## 1.1. Metody produkcji radioizotopów do celów medycznych

W medycynie nuklearnej nie mają zastosowania radioizotopy występujące naturalnie w przyrodzie przez ich długie czasy połowicznego rozpadu. Z tego powodu do celów medycznych radionuklidy są wytwarzane sztucznie przy wykorzystaniu odpowiednich reakcji jądrowych wymuszających oddziaływania prowadzące do powstania jądra atomowego o odmiennych właściwościach [1].

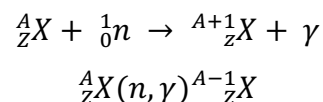
Radionuklidy stosowane do celów diagnostycznych lub terapeutycznych w zakładzie medycyny nuklearnej otrzymywane są na trzy sposoby. Pierwszy polega na neutronowym rozszczepianiu cięższych jader na dwa lżejsze jadra, drugi na napromienianiu neutronami stabilnych jader. Oba sposoby produkcji przeprowadzane są w reaktorze jądrowym. Trzeci sposób polega na naświetlaniu materiału tarcz odpowiednimi wiązkami cząstek przyspieszanych w cyklotronie [2].

### 1.1.1. Metoda reaktorowa

Jedną z omawianych metod wytwarzania radioizotopów jest reaktorowa metoda produkcji. Produkowane radionuklidy powstają przez aktywację stabilnych izotopów ciężkimi neutronami lub poprzez rozszczepienie ciężkich nuklidów [3 - 6].

#### 1.1.1.1. Aktywacja stabilnego materiału neutronami

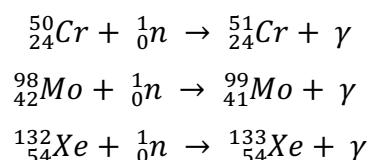
Pochłanianie neutronów termicznych o energii mniejszej od 0,1 keV przez stabilne jądra skutkuje wytworzeniem nowych radioaktywnych jader. Przemiana przebiega zgodnie ze wzorem:



Izotopy powstające w wyniku napromieniowania stabilnych jader związane są nośnikiem, tj. materiałem w postaci innych niepożądanych izotopów. Typowym zjawiskiem dla neutronów termicznych jest wychwyty neutronu przez stabilne jądro atomowe w wyniku,

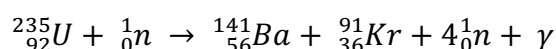
którego powstają nowe radioaktywne jądra. Reakcja ta nosi nazwę aktywacji neutronowej, ponieważ jądro, które powstaje jest w stanie wzbudzonym. Radioizotopy powstające dzięki tej reakcji jądrowej najczęściej emitują promieniowanie  $\beta^-$  ponieważ ilość neutronów w jądrze atomowym ulega zwiększeniu [1,4,5].

Przykładami radionuklidów pozyskiwanymi tą metodą i mających zastosowanie w medycynie nuklearnej są:

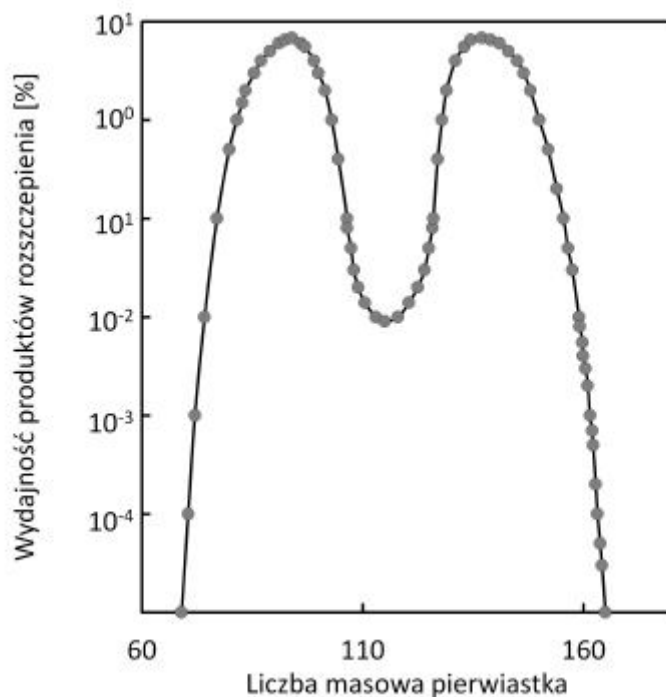


### 1.1.1.2. Rozszczepienie ciężkich nuklidów

W reakcji rozszczepienia ciężkich jąder pod wpływem neutronów termicznych w reaktorze jądrowym powstają zazwyczaj dwa, rzadziej trzy, fragmenty o porównywalnych masach atomowych z nadmiarem neutronów. Przemiana może przebiegać według następującego schematu:

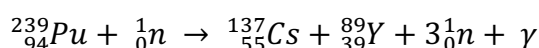
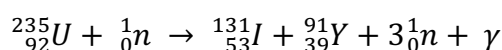
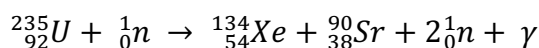
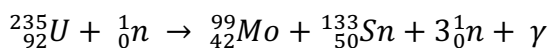


Zjawisko rozszczepienia ciężkich nuklidów można zaobserwować dla pierwiastków: uran, neptun, pluton czy tor. Powszechnie wykorzystywany w reaktorach jądrowych jest uran  ${}^{235}\text{U}$ . Powstała w wyniku rozpadu mieszanina izotopów składa się z radionuklidów stabilnych oraz radionuklidów niestabilnych posiadających nadwyżkę neutronów, emitujących promieniowanie  $\beta^-$ . Wyprodukowane „fragmenty nuklidowe” najczęściej mają liczby masowe w przedziale 70 do 160 i stanowią bardzo zróżnicowaną mieszaninę pod względem fizycznym, a także chemicznym. Produktami pośrednimi mogą być metale, niemetale, a nawet gazy szlachetne (rycina 1) [5,7].



**Rycina 1.** Rozkład mas fragmentów rozczepienia [5].

Przykładami radionuklidów pozyskiwanymi tą metodą i mających zastosowanie w medycynie nuklearnej są:



### 1.1.2. Metoda generatorowa

Istotniejszą dla medycyny nuklearnej, od wcześniej omawianej metody produkcji izotopów promieniotwórczych, jest metoda generatorowa. Metoda ta pozwala na użycie krótkożyjących radioizotopów z dala od miejsca ich produkcji. Zasada działania generatora polega na rozpadzie długożyjącego izotopu macierzystego wyprodukowanego metodą reaktorową, do krótkożyjących radioizotopów. W zależności od użytego izotopu, generatory mają różną budowę. Najczęściej spotykanym generatorem jest generator molibdenowo-technetowy ( ${}^{99}\text{Mo}/{}^{99\text{m}}\text{Tc}$ ). Składa się on z szklanej kolumny chromatograficznej wypełnionej korundem czyli tlenkiem glinu ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), będącym złożem nośnym dla izotopu macierzystego  ${}^{99}\text{Mo}$ , do którego radioizotop ten ma duże powinowactwo.  ${}^{99}\text{Mo}$  rozpada się

do izotopu krótkożyciowego  $^{99m}\text{Tc}$ , który ma większe, niż izotop macierzysty powinowactwo do stosowanego eluatu 0.9% NaCl. Wydobyty z generatora technet w postaci pertechnetu sodu ( $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ) jest używany do znakowania zestawów radiofarmaceutycznych używanych w diagnostyce z zastosowaniem techniki tomografii emisyjnej pojedynczego fotonu (SPECT).

Idealny generator radioizotopowy powinien charakteryzować się następującymi cechami:

- radioizotop pochodny powinien posiadać odmienne właściwości chemiczne niż radioizotop macierzysty, co umożliwia łatwą separację chemiczną radioizotopu powstałego w generatorze,
- izotop pochodny powinien posiadać takie właściwości chemiczne, które będą wpływały na łatwą syntezę radiofarmaceutyku,
- proces elucji radioizotopu krótkożyciowego musi przebiegać szybko i łatwo,
- eluat powinien mieć pH rzędu 4,5-4,7 (obszar fizjologiczny), a także być sterylny oraz apyrogeny,
- podczas elucji radioizotopu pochodnego z kolumny chromatograficznej, radioizotop macierzysty powinien pozostawać w materiale kolumny;
- zastosowane osłony generatora przed promieniowaniem jonizującym powinny być skuteczne,
- eluat powinien spełniać normy kontroli jakości, tj. czystość chemiczna, czystość radiochemiczna, czystość radionuklidowa,
- wydajność generatora, czyli wielkość opisująca procentową zawartość aktywności wymywanej z całkowitej aktywności jąder pochodnych, które znajdują się w kolumnie chromatograficznej: dla generatorów, w których jądrem pochodnym jest technet wydajność jest wysoka i wynosi 70–90 %, [8-10].

### 1.1.3. Metoda cyklotronowa

Inną metodą produkcji radioizotopów jest metoda wykorzystująca cyklotron lub akcelerator. Polega ona na aktywacji materiału tarczowego wiązką naładowanych elektrycznie cząsteczek przyspieszonych do znacznej prędkości.

Akceleratory cząstek są to urządzenia, które umożliwiają wytwarzanie strumienia naładowanych cząstek o wysokich energiach. Cyklotron jest specyficznym kołowym typem akceleratora, w którym przyspieszane cząstki poruszają się po torze zbliżonym do spiralnego (rycina 2 i 3). Układami podstawowymi w systemie cyklotronowym są:

- Elektromagnes 1–2 T,
- System próżni do  $10^{-5}$  Pa,
- System wysokiej częstotliwości (około 40 MHz) zapewniając najczęściej napięcie o wartości szczytowej wartość około 40 kV,
- Źródło jonów [11].



**Rycina 2.** Cyklotron RDS 111 firmy Siemens (źródło: zdjęcie własne).

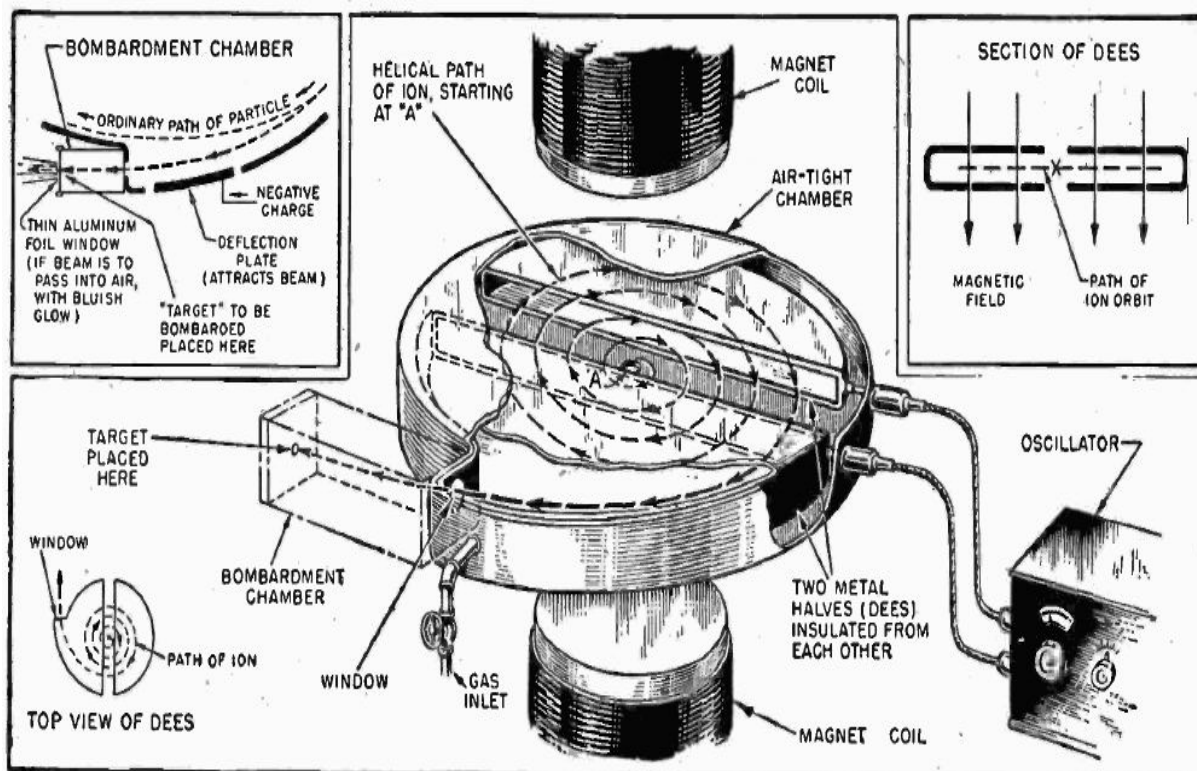


**Rycina 3.** Wnętrze cyklotronu RDS 111 firmy Siemens (źródło: zdjęcie własne).

Klasyczny cyklotron zbudowany jest z dwóch nabiegunników litego elektromagnesu, pomiędzy którymi znajduje się komora próżniowa z duantami, które zasilane są za pomocą generatora wysokich częstotliwości. Cząstki w cyklotronie emitowane są ze źródła umieszczonego centralnie. Za spiralne przyspieszenie cząstek odpowiadają siły Lorentza, które zakrzywiają ich tor ruchu działając prostopadle do wektora prędkości tych cząstek. Częstotliwość napięcia, które przyspiesza cząstki ma stałą wartość, biorąc pod uwagę, że ruch cząstki musi być zsynchronizowany z tą częstotliwością, to czas jednego cyklu obrotowego musi być zawsze taki sam, niezależnie od energii cząstki. Do źródła jonów doprowadzany jest gaz w celu jego jonizacji. Jonizacja gazu zachodzi przez różnice potencjałów wygenerowaną w źródle. Interesujące nas cząstki wprowadzane są do układu przyspieszającego. Przyspieszanie przebiega skokowo i cząstki otrzymują zwiększenie energii podczas każdego obiegu. Przyspieszanie ma miejsce w szczelinie pomiędzy elektrodami. Promień, po którym poruszają się cząstki rośnie wraz z energią, a maksymalna energia do jakiej możemy przyspieszyć cząstki zależy bezpośrednio od średnicy elektromagnesu i duantu oraz od wartości indukcji pola magnetycznego. Jony, krążąc po spiralnym torze, zataczają obiegi o coraz większej średnicy zbliżając się tym samym do krawędzi, gdzie znajduje się tak zwany układ kierowania wiązki na tarczę (rycina 4) [12,13].



Materiał tarczowy ulega aktywacji pod wpływem wiązki wybranych cząstek, w wyniku czego zachodzi reakcja jądrowa prowadząca do powstania określonego izotopu [2]. Zaletą tej produkcji izotopów jest fakt, że powstające w tarczy produkty są inne pod względem chemicznym, niż materiał tarczy przed reakcją, co sprawia, że można odseparować poszczególne pierwiastki przy użyciu odpowiednich metod chemicznych [14].



**Rycina 4.** Podstawowe zasady działania cyklotronu [13].

W przypadku akceleratora cząstek dodatnich układ wyprowadzania cząstki stanowią: półkolisty kondensator zwany „deflektorem” i magnes pomocniczy „fokalizator”. Deflektor jest zasilany stałym napięciem w sposób impulsowy, napięcie to wytwarza gradient 50-100 kV/cm. Zadaniem deflektora jest zakrzywienie wiązki jonów poza tor spiralny i poza obszar elektromagnesów. Fokalizator natomiast ma za zadanie przedłużenie toru wychylonej wiązki i lekkie jej zogniskowanie [13].

Obecnie w cyklotronach przyspiesza się zarówno cząstki dodatnie jak i ujemne.

Do przyspieszanych cząstek należą:

- elektrony - które mają ładunek ujemny, są najczęściej przyspieszane ze względu na możliwość otrzymywania ich w dużych ilościach, jako elektronów swobodnych,
- protony - czyli jądra atomów wodoru o dodatnim ładunku jednostkowym,
- deuterony - jądra atomowe deuteru, izotopu wodoru  ${}^2_1\text{H}$ , zwanego ciężkim wodorem. Deuter posiada oprócz jednego protonu, jeden neutron,
- cząsteczki alfa - czyli atomy helu  ${}^4\text{He}$  o dodatnim ładunku, który jest równy podwójnemu ładunkowi jednostkowemu. Cząsteczki alfa składają się z 2 protonów i 2 neutronów,
- Ciężkie jony - jony pierwiastków o liczbie atomowej większej niż 2.

Przyspieszanie jonów ujemnych przypomina przyspieszanie dodatnich jednak tylko na początku, na koniec procesu przyspieszania jony trafiają na cienką folię metalową na której odbywa się stripping, czyli zmiana biegunowości. Należy pamiętać, że kierunek, w którym obracają się cząstki jest zależny od ich ładunku [15,16]. Cząstki przyspieszane przedstawione są na rycinie 5, a izotopy, które można uzyskać tą drogą produkcji cyklotronowej przedstawione są na rycinie 6.

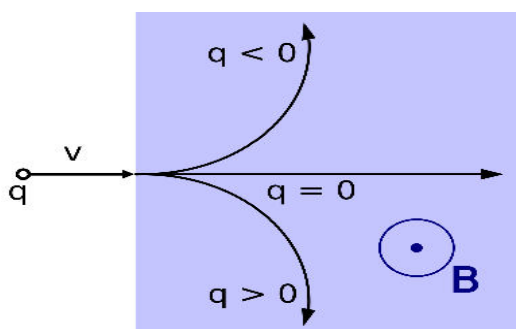
Cząstka - pocisk	Typowa reakcja
proton	${}^A_Z X(p, n) {}^{A+1}_{Z+1} Y$ ${}^A_Z X(p, 2n) {}^{A+1}_{Z+1} Y$
deuteron	${}^A_Z X({}^2_1 D, n) {}^{A+1}_{Z+1} Y$ ${}^A_Z X({}^2_1 D, p) {}^{A+1}_Z Y$ ${}^A_Z X({}^2_1 D, 2n) {}^A_{Z+1} Y$
Hel-3	${}^A_Z X({}^3_2 \text{He}, n) {}^{A+2}_{Z+2} Y$ ${}^A_Z X({}^3_2 \text{He}, p) {}^{A+2}_{Z+1} Y$
Hel-4 (cząstki $\alpha$ )	${}^A_Z X({}^4_2 \text{He}, n) {}^{A+3}_{Z+2} Y$ ${}^A_Z X({}^4_2 \text{He}, 2n) {}^{A+2}_{Z+2} Y$

**Rycina 5.** Przykłady cząstek przyspieszanych w cyklotronach oraz ich reakcje jądrowe [17].

Radio-nuclide	Nuclear reaction	Half life (minutes)	Threshold energy (MeV)	Type of radiodiagnostic modality	Type of disease diagnosed
$^{18}\text{F}$	$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$	110	3.7	PET	Prostate cancer
$^{11}\text{C}$	$^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$	20.4	3.1	PET	Alzheimer's disease
$^{15}\text{O}$	$^{15}\text{N}(p,n)^{15}\text{O}$	2	9.3	PET	Stroke imaging
$^{13}\text{N}$	$^{16}\text{O}(p,\alpha)^{13}\text{N}$	10	5.6	PET	Cardiac disease
$^{64}\text{Cu}$	$^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$	762	2.7	PET	Prostate cancer
$^{124}\text{I}$	$^{124}\text{Te}(p,n)^{124}\text{I}$	6019.2	4.0	PET	Thyroid disease
$^{99m}\text{Tc}$	$^{100}\text{Mo}(p,2n)^{99m}\text{Tc}$	360	7.8	SPECT	Kidney disease
$^{123}\text{I}$	$^{124}\text{Te}(p,2n)^{123}\text{I}$	793.2	11.5	SPECT	Thyroid imaging
$^{201}\text{Tl}$	$^{203}\text{Tl}(p,3n)^{201}\text{Pb} \rightarrow ^{201}\text{Tl}$	4386	17.5	SPECT	Thyroid imaging
$^{111}\text{In}$	$^{112}\text{Cd}(p,2n)^{111}\text{In}$	4039.2	11.1	SPECT	Neuroendocrine tumor
$^{67}\text{Ga}$	$^{68}\text{Zn}(p,2n)^{67}\text{Ga}$	4680	12.2	SPECT	Blood studies

**Rycina 6.** Izotopy produkowane w cyklotronie [18].

Podstawowym zjawiskiem fizycznym na którym opiera się praca cyklotronu jest siła Lorentza, opisana wzorem (rycina 7 i 8):



$$F = q(\mathbf{v} \times \mathbf{B})$$

Gdzie:

$F$  - wektor siły dany w niutonach

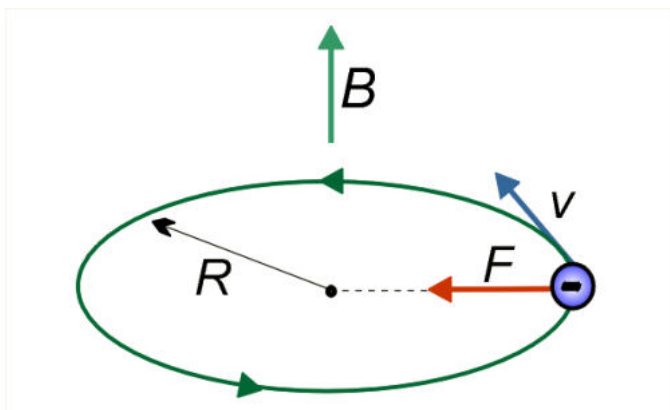
$q$  - ładunek elektryczny cząstki w kulombach

$B$  - wektor indukcji magnetycznej w teslach

$\mathbf{v}$  - wektor prędkości cząstki w metrach na sekundę

**Rycina 7.** Graficzne przedstawienie siły Lorentza [19].

Siła ta działa tylko na cząstki posiadające ładunek, wytwarzające pole magnetyczne, czyli tylko na takie które są w ruchu.



**Rycina 8.** Przedstawienie siły Lorentza w cyklotronie [20].

Na cząstkę, która porusza się z określoną prędkością, prostopadle do linii indukcji pola magnetycznego działa siła o maksymalnej wartości i kierunku prostopadłym do płaszczyzny utworzonej przez linie pola i wektor prędkości cząstki. Działa ona jako siła dośrodkowa i zapewnia spiralny ruch cząstkom w komorze przyspieszającej.

$$\frac{mv^2}{r} = Bqv$$

Określa się ją wtedy wzorem:

Gdzie:

m- masa cząstki

q- jej ładunek

v-prędkość

r- promień toru ruchu

B- indukcja pola magnetycznego.

Promień toru, po którym porusza się cząstka w polu magnetycznym dany jest wzorem:

$$r = \frac{mv}{qB}$$

Gdzie:

m - masa cząstki

v - składowa prędkości cząstki prostopadła do linii pola magnetycznego

q - wartość bezwzględna ładunku elektrycznego

B - indukcja magnetyczna

W cyklotronie częstość Larmora, z jaką cząstka naładowana porusza się po okręgu w jednorodnym polu magnetycznym, jest niezależna od prędkości z jaką porusza się dana cząstka. Zależna jest jednak od ładunku i masy cząstki oraz indukcji pola w jakim się znajduje. Wartością zależną od prędkości cząstki jest w tym przypadku promień po jakim krąży cząstka [21,22].

Energię cząstek naładowanych wyraża się w elektronowoltach (eV). Jeden elektronowolt jest energią równą ładunkowi elektronu, uzyskaną przez cząstkę w polu elektrycznym o różnicy potencjałów 1V. Najczęściej używamy się jej wielokrotności, ponieważ podstawowa jednostka jest bardzo mała  $1\text{eV} \sim 1,6 \times 10^{-19} \text{ J}$ . Przyspieszane cząstki otrzymują co najmniej energie 20-100 keV [23,24].

## 1.2. Radiofarmaceutyki

Radiofarmaceutyki to substancje biologicznie czynne powstałe z połączenia chemicznego trzech elementów:

- radioizotopu, czyli izotopu promieniotwórczego, którego zadaniem jest emisja określonego promieniowania w celu obrazowania rozmieszczenia radiofarmaceutyku lub wywołania efektu terapeutycznego, niszczącego komórki docelowe,
- ligandu, będącego związkiem chemicznym, peptydem, białkiem, przeciwciałem, komórką lub inną cząsteczką wykazującym gromadzenie w wybranym narządzie. Ligand jest nośnikiem dostarczającym radioizotop w miejsce diagnozowanego lub leczonego narządu,
- łącznika, mającego za zadanie połączenie radioizotopu z ligandem [25].

Przy projektowaniu radiofarmaceutyków należy skoncentrować się na wspomnianych powyżej elementach, gdzie pierwszym z nich to dobór odpowiedniego izotopu. Radioizotopy stosowane w medycynie nuklearnej w zależności od zasięgu w tkankach oraz emitowanego promieniowania mają różne zastosowanie. Emitery promieniowania  $\gamma$  i  $\beta^+$  stosuje się do diagnostyki, a emitery promieniowania  $\beta^-$  i  $\alpha$  do terapii. Występują również radioizotopy wykazujące podwójny charakter promieniowania np. jod  $^{131}\text{I}$  ( $\beta^-$  90% , $\alpha$  10%), które mogą być używane zarówno jako izotopy diagnostyczne jak i terapeutyczne. Oprócz wyboru odpowiedniego promieniowania należy zwrócić uwagę na emitowaną energię, która daje informację o zasięgu promieniowania w tkance. Radioizotopy terapeutyczne powinny emitować promieniowanie o dużym liniowym współczynniku przenoszenia energii (LET Linear Energy Transfer). Przykładowo zasięg  $\beta^-$  izotopu itru  $^{90}\text{Y}$  ( $E_{\text{sr.}} = 933.6 \text{ keV}$ ) równy jest średnicy 215 komórek, zasięg  $\beta^-$  izotopu jodu  $^{131}\text{I}$  ( $E_{\text{sr.}} = 181.9 \text{ keV}$ ) = 40 komórek, natomiast zasięg  $\alpha$  izotopu astatu  $^{211}\text{At}$  ( $E = 5.9\text{MeV}$ ) stosowanego w terapii równy jest zaledwie średnicy 3 komórek [26].

Radioizotopy diagnostyczne powinny emitować jedynie fotony o energii, która zapewnia odpowiednią penetrację przez tkanki (promieniowanie  $\gamma$  oraz  $\beta^+$ ) o niskim współczynniku LET, co zapewnia wysoką efektywność oraz przestrzenną zdolność rozdzielczą w rejestracji i obrazowaniu. Również emitowane przez nie promieniowanie powinno być w łatwy sposób kolimowane. Dodatkowo cechami obu typów radioizotopów powinna być łatwość

wbudowania izotopu w wybrany ligand oraz dostępność izotopu generujące jego cenę (rycina 9) [5,27, 28, 29,30].

		Diagnostyczne $\gamma$ (SPECT)		Diagnostyczne $\beta^+$ (PET)		Diagnostyczne/ Terapeutyczne																													
		Terapeutyczne $\beta^-$		Terapeutyczne $\alpha$																															
1	H											2	He																						
3	Li	4	Be											5	B	6	C	7	N	8	O	9	F	10	Ne										
11	Na	12	Mg											13	Al	14	Si	15	P	16	S	17	Cl	18	Ar										
19	K	20	Ca	21	Sc	22	Ti	23	V	24	Cr	25	Mn	26	Fe	27	Co	28	Ni	29	Cu	30	Zn	31	Ga	32	Ge	33	As	34	Se	35	Br	36	Kr
37	Rb	38	Sr	39	Y	40	Zr	41	Nb	42	Mo	43	Tc	44	Ru	45	Rh	46	Pd	47	Ag	48	Cd	49	In	50	Sn	51	Sb	52	Te	53	I	54	Xe
55	Cs	56	Ba	*		72	Hf	73	Ta	74	W	75	Re	76	Os	77	Ir	78	Pt	79	Au	80	Hg	81	Tl	82	Pb	83	Bi	84	Po	85	At	86	Rn
87	Fr	88	Ra	**		104	Rf	105	Db	106	Sg	107	Bh	108	Hs	109	Mt	110	Ds	111	Rg	112	Cn	113	Uut	114	Fl	115	Uup	116	Iv	117	Uus	118	Uuo
				*	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71																
				Lantanowce	La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu																
				**	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103																
				Aktynowce	Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr																

Rycina 9. Przykłady radionuklidów stosowanych w medycynie [27].

Kolejnym krokiem projektowania radiofarmaceutyku jest wybór ligandu. Ligand jest nośnikiem radioznacznika, który musi zostać wprowadzony w odpowiednie miejsce w organizmie w celu wykorzystania jego właściwości terapeutycznych lub diagnostycznych. Ligand powinien charakteryzować się wysoką swoistością tkankową i wykazywać jak największą akumulację w miejscu docelowym [5,28,29,30].

Ze względu na szerokie możliwości stosowania radiofarmaceutyków muszą one spełniać szereg warunków. Każdy preparat promieniotwórczy powinien być:

- nietoksyczny dla pacjenta,
- apyrogeny,
- sterylne,
- specyficzny dla badanego układu lub narządu,
- okres półtrwania radionuklidu powinien być wystarczająco długi, tak żeby radiofarmaceutyk dotarł do zmiany i możliwe było uzyskania oczekiwanego efektu obrazowania lub terapii, radiofarmaceutyk niezwiązany ze zmianą został usunięty z organizmu
- możliwie łatwo dostępny oraz tani w produkcji,

- stabilny, czyli powinien zachować swoje właściwości chemiczne, fizyczne oraz biologiczne przez czas wykonywanego badania,
- radionuklid powinien być związany z nośnikiem w sposób trwały in vivo, stąd własności chemiczne radiopierwiastka muszą być dobrze znane, żeby zastosować najbardziej stabilne połączenie go z nośnikiem [8,31,32,33].

Radiofarmaceutyki mogą być podawane doustnie, dożylnie, inhalacyjnie, dostawowo, domięśniowo, stąd występują w różnych postaciach farmaceutycznych takich jak:

- roztwory do wstrzykiwań ( $^{131}\text{I}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{89}\text{Sr}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) – są najczęściej stosowane, dostarczane w szklanej fiolce o pojemności 10 mL, zamkniętej korkiem i kapslem aluminiowym, umieszczonej w ołowianym pojemniku osłonowym, objętość roztworu odpowiada aktywności wyznaczonej dla pacjenta na dany dzień,
- dyspersje koloidalne do wstrzykiwań ( $^{169}\text{Er}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{198}\text{Au}$ ) – stosowane w leczeniu nieinfekcyjnych stanów zapalnych w obrębie stawów, wstrzykuje się dostawowo cząstki radioaktywne o wielkości od 1 do 6  $\mu\text{m}$ , co zapobiega przedostawaniu się poza torebkę stawu, powoduje to zdeponowanie całkowitej energii promieniowania jonizującego w obrębie błony maziowej,
- kapsułki doustne ( $^{131}\text{I}$ ) twarde – pakowane w fiolkach polietylenowych, zamkniętych polietylenowym korkiem, zaopatrzonych w absorbent jodu i umieszczonych w ołowianym pojemniku osłonowym. Do opakowania dołączany jest polipropylenowy aplikator do podawania kapsułki. Kapsułki z jodkiem sodu  $\text{Na}^{[131]\text{I}}$  produkowane są w ośrodkach radioizotopowych. Mogą być też otrzymywane przez wstrzyknięcie radioaktywnego roztworu  $\text{Na}^{[131]\text{I}}$  do kapsułki zawierającej wodorofosforan sodu,
- aerozole inhalacyjne ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) – podawane są w celu przeprowadzenia badania scyntygraficznego. Aerosol wdychany jest przez pacjenta przez ustnik przy zamkniętych nozdrzach lub za pomocą maski twarzowej. Badanie pozwala na wykrycie zmian nowotworowych w płucach,
- lży radowe, aplikatory ( $^{90}\text{Y}$ ,  $^{89}\text{Sr}$ ,  $^{106}\text{Ru}$ ,  $^{192}\text{Ir}$ ) – służą do przeprowadzania bezpośredniego napromieniania zmian chorobowych przez umieszczenie źródła promieniowania w guzie lub jego sąsiedztwie. Taka metoda brachyterapii stosowana jest do leczenia raka skóry, piersi, płuc, krtani czy narządów rodnych [34].



## 1.3. Biochemia wybranych radiofarmaceutyków

### 1.3.1. [<sup>18</sup>F]FDG

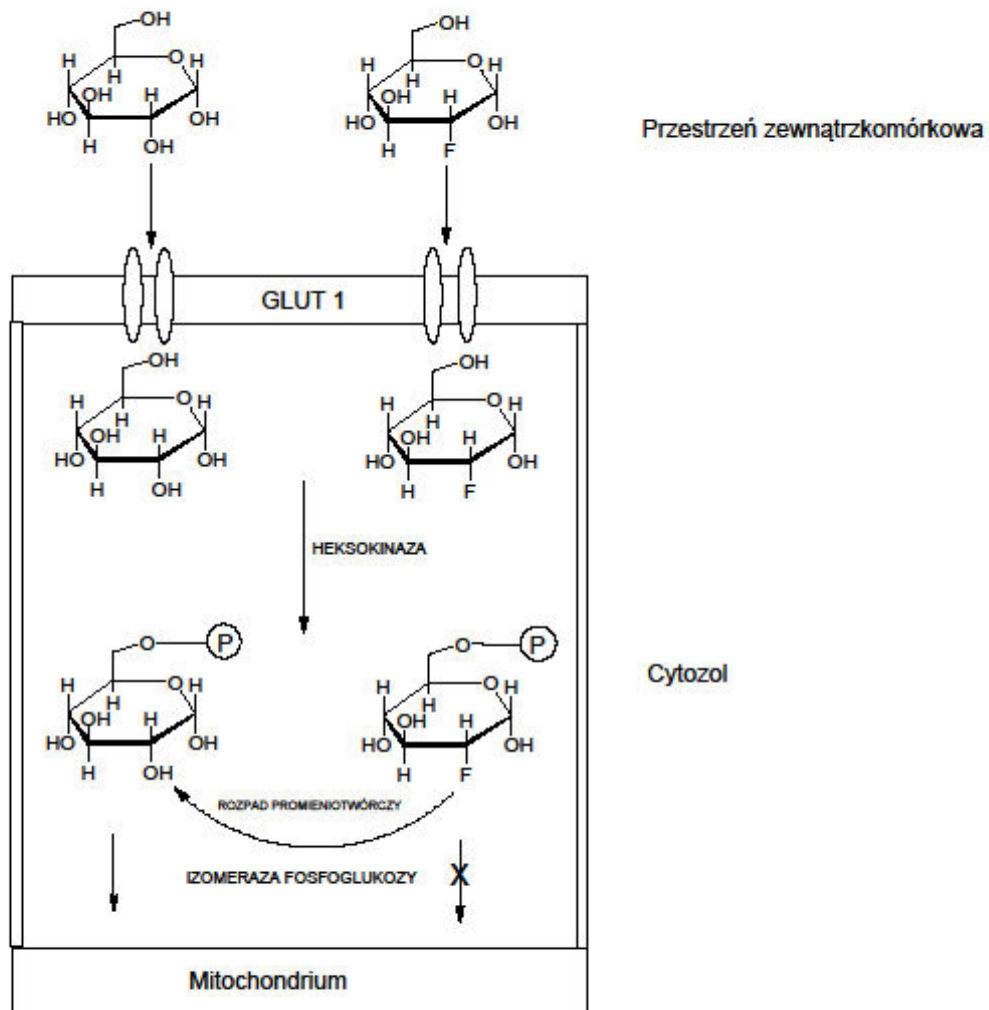
Komórki nowotworowe cechują się nieograniczonym potencjałem replikacyjnym, wytwarzaniem własnych czynników wzrostowych, opornością na apoptozę, zdolnością do tworzenia własnej sieci naczyń krwionośnych, indukowaniem stanu zapalnego, ignorowaniem sygnałów hamujących proliferację oraz odmiennym metabolizmem komórkowym [35].

Aby przetrwać i wzrastać, tworzą własne swoiste mikrośrodowisko. Jednym z bardzo ważnych elementów stworzenia takich warunków jest zdolność nowotworu do wytworzenia własnej sieci naczyń krwionośnych - angiogeneza. Sieć ta uczestniczy w zaopatrywaniu komórek w substancje odżywcze, czynniki wzrostowe, odpowiednią ilość tlenu oraz usuwaniu zbędnych substancji przemiany materii. W angiogenezie fizjologicznej jak i nowotworowej główną rolę odgrywa czynnik wzrostu śródbłonna naczyń - VEGF (ang. vascular endothelial growth factor). Powstająca sieć naczyń nowotworu znacznie różni się od naczyń prawidłowych. Są to naczynia niedojrzałe, o nieuporządkowanej strukturze oraz o zmiennym przepływie krwi powodującym cykliczne, zmienne niedotlenienie - hipoksję. Brak tlenu aktywuje czynniki proangiogenne, w tym VEGF, indukujące powstanie kolejnych nieprawidłowo rozwiniętych naczyń. W tak wytworzonym środowisku następuje przeprogramowanie metabolizmu nowotworu [36,37]. Aktywacja czynnika transkrypcyjnego indukowanego hipoksją HIF1 $\alpha$  (ang. hypoxia inducible factor 1  $\alpha$ ) prowadzi do zahamowania oddychania mitochondrialnego i przesunięcia metabolizmu glukozy w stronę glikolizy beztlenowej. Na poziomie biochemicznym, następuje to w wyniku inaktywacji dehydrogenazy pirogronianowej przez kinazę dehydrogenazy pirogronianowej i prowadzi do ograniczenia przekształcania pirogronianu do acetylo – CoA. Oprócz tego HIF1 $\alpha$  odpowiedzialny jest za zmiany ekspresji wielu genów, w tym nadekspresję błonowego transportera glukozy 1 - GLUT 1 (ang. glucose transporter 1) oraz enzymów biorących udział w procesie glikolizy. Wszystkie te czynniki wpływają na podwyższenie metabolizmu glukozy [38].

Komórki prawidłowe w procesie glikolizy, w warunkach wystarczającego dostępu do tlenu, metabolizują glukozę do pirogronianu. Następnie acetylo – CoA powstały z utleniania pirogronianu wchodzi w cykl Krebsa, w którym ulega utlenieniu do CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub>O. W wyniku tego jeden mol glukozy dostarcza 30 (lub 32) moli ATP.

W warunkach ograniczonego dostępu do tlenu, pirogronian jest przekształcany do kwasu mlekowego, z czego powstają jedynie 2 mole ATP [39, 40]. Komórki zmienione nowotworowo, nawet przy dostatecznym dostępie tlenu, wybierają glikolizę beztlenową, pomimo że dostarcza ona małe ilości ATP. Dzieje się tak dlatego, że w procesie glikolizy powstają produkty pośrednie, potrzebne m.in. do syntezy kwasów nukleinowych, białek oraz lipidów. Komórki nowotworowe rekompensują sobie wybór mniej efektywnego energetycznie procesu poprzez zwiększenie intensywności glikolizy beztlenowej 124 – krotnie. Zwiększenie intensywności tego procesu powoduje nasilone powstawania produktów pośrednich, utrzymanie dopływu energii i składników odżywczych na odpowiednim poziomie [35,38,41].

Opisywana cecha nowotworów została wykorzystana w procesie diagnozowania ognisk nowotworowych metodą pozytonowej emisyjnej tomografii (PET) z użyciem 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-glukozy ([<sup>18</sup>F]FDG). Związek ten jest transportowany i metabolizowany przez te same mechanizmy co glukoza, lecz na szlaku pojawiają się pewne różnice. [<sup>18</sup>F]FDG ulega fosforylacji przez heksokinazę do 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-glukozy-6-fosforanu i w takiej formie gromadzi się w komórkach nowotworowych, ponieważ 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-glukozy-6-fosforan nie ulega dalszym przemianom przez izomerazę fosfoglukozy z powodu braku dopasowania się enzymu do cząsteczki tego związku. Po rozpadzie promieniotwórczym <sup>18</sup>F wbudowanego w cząsteczkę [<sup>18</sup>F]FDG, utworzony z <sup>18</sup>F tlen łączy się z cząsteczką wodoru, tworząc grupę [<sup>18</sup>O]OH przy węglu C2 glukozy. Powstały glukozy-6-fosforan zostaje następnie przekształcony przez izomerazę fosfoglukozy i może ulec dalszym przemianom w procesie glikolizy (rycina 10) [42].



**Rycina 10.** Mechanizm gromadzenia  $[^{18}\text{F}]$ FDG w komórce – pułapka molekularna (rysunek własny).

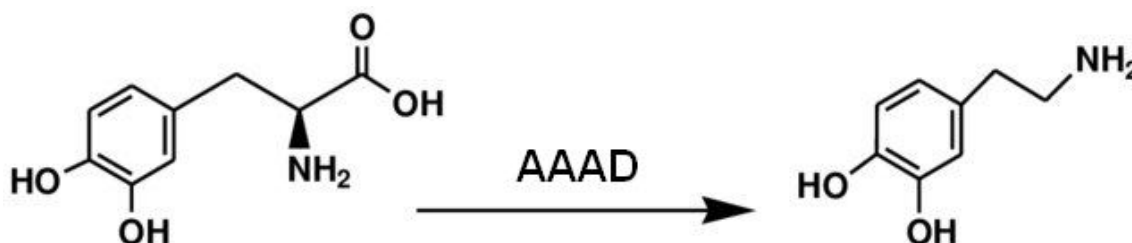
Badanie  $[^{18}\text{F}]$ FDG PET/CT wykazuje większą czułość niż badanie tomografii komputerowej (CT) w diagnostyce pojedynczego guza płuca, ocenie stopnia zaawansowania niedrobnokomórkowego raka płuc, w kontroli leczenia i kontroli po leczeniu chłoniaka Hodgkina i chłoniaków typu non-Hodgkin, również w ocenie stopnia zaawansowania i diagnostyce wznowy w raku jelita grubego i raka przełyku oraz ocenie stopnia zaawansowania czerniaka szczególnie u pacjentów z podejrzeniem przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych i narządów odległych [43].

### 1.3.2. [<sup>18</sup>F]F-DOPA

[<sup>18</sup>F]6-fluoro-3,4-dihydroksy-L-fenylalanina ([<sup>18</sup>F]F-DOPA) jest znacznikiem stosowanych rutynowo w diagnostyce PET w Niemczech, Francji i Anglii. W Polsce znacznik ten jest niezarejestrowany i bardzo ciężko dostępny. Pod względem budowy chemicznej różni się od naturalnie występującego związku w organizmie, tj. L-DOPY atomem fluoru 18 [<sup>18</sup>F] w pozycji 6. Dzięki niewielkiej różnicy w budowie zachowuje podobną kinetykę i biorównoważność co jej nieoznakowany analog [44].

Po iniekcji [<sup>18</sup>F]F-DOPA metabolizowana jest takim samym szlakiem jak L-DOPA. Transportowana do neuronów presynaptycznych, gdzie aromatyczna dekarboksylaza L-aminokwasów (AAAD) przekształca go w [<sup>18</sup>F]fluorodopaminę ([<sup>18</sup>F]FDA), która to z kolei jest zatrzymywana w magazynach katecholamin (rycina 11) [45].

Zarówno [<sup>18</sup>F]F-DOPA jak i L-DOPA są prekursorami dopaminy, które są zdolne do przenikania bariery krew-mózg, dopamina natomiast nie przechodzi przez nią. Właściwość przenikania bariery krew-mózg przez [<sup>18</sup>F]F-DOPA pozwala m. in. na preferencyjny wychwyty znacznika w komórkach dopaminergicznych w mózgu, gdzie konwersja do [<sup>18</sup>F]FDA jest ponownie ułatwiona przez AAAD. W związku z tym można monitorować produkcję i metabolizm dopaminy. Pozwala to na diagnozę i badanie chorób, w których produkcja i metabolizm [<sup>18</sup>F]FDA jest niewystarczający lub nieprawidłowy. [<sup>18</sup>F]F-DOPA jest znacznikiem wykorzystywanym w obrazowaniu integralności i funkcji dopaminergicznego układu nigrostriatalnego oraz chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona i schizofrenia, za pomocą techniki PET/CT [44,47-49,50-52]. Marker ten znalazł również zastosowanie w onkologii, zwłaszcza w obrazowaniu guzów neuroendokrynych (NET) [53-55] i neuroblastoma [56,57].



Rycina 11. Metabolizm L-DOPA przez AAAD (rysunek własny).

### 1.3.3. ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina

([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina jest substratem do syntezy fosfatydylocholiny, głównego fosfolipidu błony komórkowej. ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina posiada taką samą strukturę oraz właściwości chemiczne i biologiczne co jej naturalny odpowiednik. W odróżnieniu od większości znaczników stosowanych w badaniu PET, znaczniki znakowane radiunuklidem [<sup>11</sup>C] zazwyczaj mają identyczną budowę, co ich naturalne odpowiedniki. Identyczna struktura sprawia, że wykazują one właściwości chemiczne i biologiczne takie same jak ich normalnie występujące analogi. Cecha ta jest bardzo unikalna w porównaniu do większości innych radioznaczników wykorzystywanych w badaniach PET, np. znakowanych radionuklidem [<sup>18</sup>F].

([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina podawana jest dożylnie. Po wstrzyknięciu wędruje wraz z krwią i jest szybko wychwytywana przez komórki za pomocą specyficznych transporterów znajdujących się na błonach komórkowych. Transportery zdolne do transportu ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina znajdują się także na obszarze bariery krew-mózg. Warunkuje to możliwość pokonywania jej przez omawiany radiofarmaceutyk [58]. Po przedostaniu się do wnętrza komórki ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina jest fosforylowana przez kinazę cholinową do [<sup>11</sup>C]-fosforylocholiny, kluczowego substratu w biosyntezie fosfatydylocholiny [59]. Następnie [<sup>11</sup>C]-fosforylocholina przekształcana jest do [<sup>11</sup>C]-cytydynodifosforanocholiny i włączana do fosfatydylocholiny, która to z kolei stanowi jeden z głównych składników błony komórkowej [60].

Komórki szybko dzielące się, takie jak komórki nowotworowe zawierają duże ilości fosfolipidów, zwłaszcza fosfatydylocholiny. Duża zawartość fosfatydylocholiny w błonie komórkowej komórek nowotworowych spowodowana jest m. in. zwiększoną aktywnością kinazy choliny [61]. Właściwość ta jest wykorzystywana w badaniach techniką PET za pomocą radioznacznika ([<sup>11</sup>C]-metyl) Cholina.

Za pomocą ([<sup>11</sup>C]-metyl) Choliny diagnozuje się przede wszystkim raka wątrobowokomórkowego [62] oraz raka gruczołu krokowego i jego przerzuty do kości [63]. Zdecydowanie rzadziej diagnozuje się przerzuty do mózgu u pacjentów z rakiem przełyku czy pęcherza moczowego [64].

#### 1.3.4. [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodu

[1-<sup>11</sup>C] Octan sodu jest jednym z najczęściej wykorzystywanych radiofarmaceutyków znakowanych radionuklidem <sup>11</sup>C w badaniach PET w Europie i USA, jednak nie w Polsce. Po podaniu dożylnym [1-<sup>11</sup>C] Octan sodu jest bardzo łatwo wychwytywany przez komórki. Główną drogą jego metabolizmu jest konwertowanie do acetylo-CoA przez syntetazę acetylo-CoA. W tej formie może być zaangażowany w dwa różne i przeciwstawne szlaki metaboliczne: anabolicznym i katabolicznym. W szlaku anabolicznym acetylo-CoA wykorzystywany jest do syntezy cholesterolu i kwasów tłuszczowych wchodzących w skład błon komórkowych. Z kolei w szlaku katabolicznym jest utleniany w mitochondriach w cyklu kwasów trikarboksylowych do CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub>O w wyniku czego wytwarzana jest energia. Tylko w niektórych przypadkach octan może być konwertowany do aminokwasów [65].

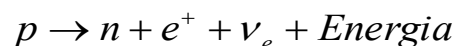
W zależności od rodzaju komórek najczęściej dominuje jeden z dwóch wymienionych powyżej szlaków metabolizmu [1-<sup>11</sup>C] Octanu sodu. Jednym z rodzajów komórek, w których główną ścieżką przemian jest szlak kataboliczny są komórki mięśnia sercowego [66]. Z kolei w komórkach nowotworowych wyraźnie dominuje szlak anaboliczny, który wynika z nadekspresji genu syntetazy kwasów tłuszczowych lub karboksylazy acetylo-CoA [65,67]. Zwiększona ekspresja jednego z tych genów będzie skutkować zwiększoną syntezą kwasów tłuszczowych w tych komórkach, a wraz z nią zwiększonym wychwytem [1-<sup>11</sup>C] Octanu sodu.

[1-<sup>11</sup>C] Octan sodu w obrazowaniu PET po raz pierwszy został zastosowany w badaniach wykorzystania tlenu w mięśniu serca. Obecnie [1-<sup>11</sup>C] Octan sodu wykorzystuje się w diagnozowaniu raka prostaty oraz wznowy jego przerzutów do kości [65], raka wątrobowokomórkowego [69], raka jasnokomórkowego nerki [70], rzadziej w innych nowotworach gromadzących [1-<sup>11</sup>C] Octan sodu, np. rak pęcherza moczowego czy rak mózgu [65].

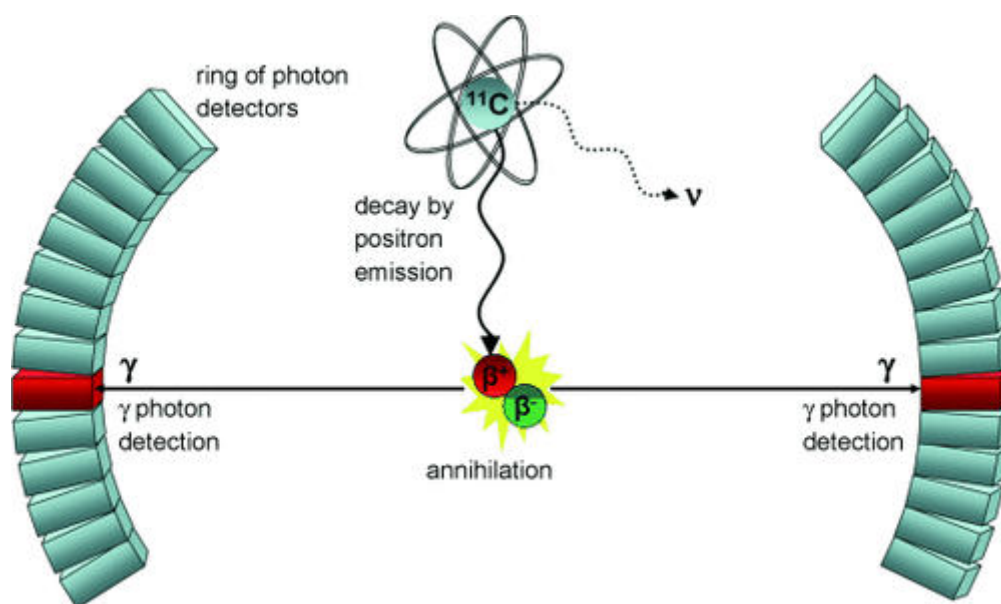
## 1.4. Fizyczne aspekty technik obrazowania wykorzystujące właściwości radiofarmaceutyków

Pozytonowa tomografia emisyjna wykorzystująca radiofarmaceutyki jest metodą emisyjną. W odróżnieniu od metod absorpcyjnych, w metodzie PET obraz jest generowany na podstawie informacji wysyłanych z obiektu, co wymaga umieszczenia źródła tych informacji w badanym obiekcie. Nośnikiem informacji w technice PET jest kwant promieniowania gamma, natomiast źródłem emitowanego promieniowania jest radiofarmaceutyk gromadzony w organizmie.

Technologia PET oparta jest o stosowanie izotopów będących emiterami pozytonów. Proton  $p$  w jądrze izotopu, w cząsteczce radiofarmaceutyku ulega rozpadowi  $\beta^+$ :



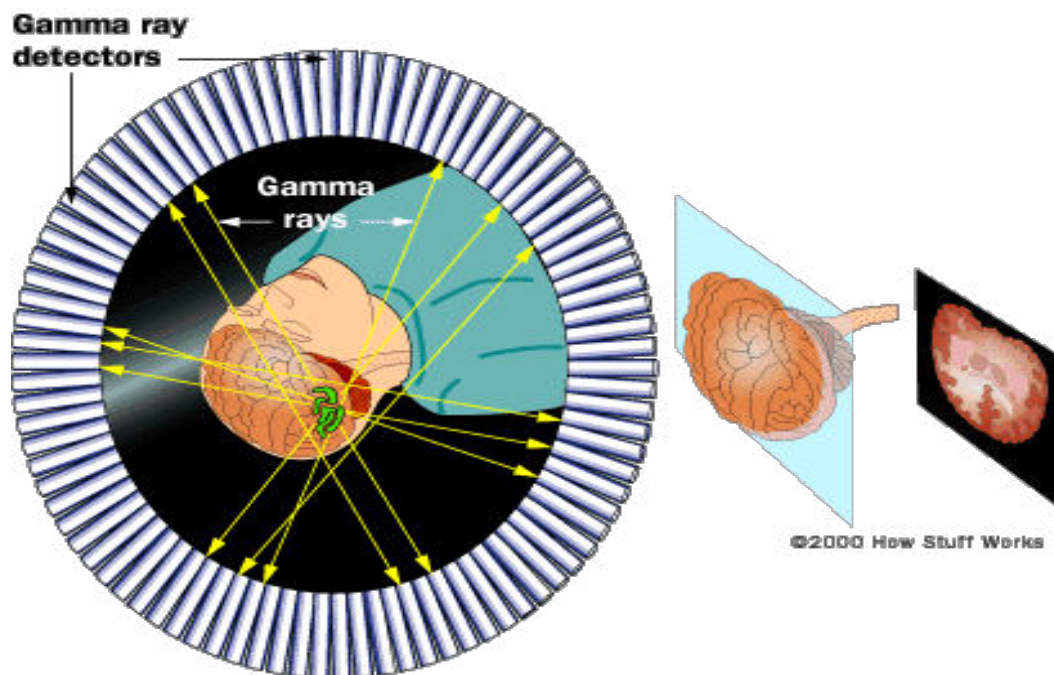
W wyniku tego rozpadu w jądrze powstaje neutron  $n$ , a z jądra wyemitowane zostają neutrino elektronowe  $\nu_e$  oraz pozyton  $e^+$  otrzymujący nadwyżkę energii z rozpadu. Pozyton ulega zderzeniom z elektronami ośrodka, przebywając niewielką drogę, aż do utraty większości swojej energii. W następnym kroku anihiluje z elektronem zamieniając swoją masę na energię wyemitowaną w postaci dwóch kwantów gamma po 511 keV, każdy w przeciwnych kierunkach. Anihilacja jest podstawą, na której bazuje technologia PET (rycina 12) [71 - 73].



**Rycina 12.** Schemat zaniku pozytonów i anihilacji [74].

Jeśli dwa detektory scyntylacyjne z pierścienia detektorów w skanerze PET, zarejestrują impuls w tym samym oknie czasowym, tzw. oknie koincydencji, to możemy założyć, że na linii łączącej te dwa detektory zaszło zjawisko anihilacji i tym samym musi znajdować się tam cząsteczka radiofarmaceutyku (rycina 13). Linia ta nazywana jest linią zdarzenia LOR (ang. line of response). Miejsce krzyżowania się tych dróg wskazuje na większą koncentrację znacznika i jest podstawą rekonstrukcji obrazów w diagnostyce PET. Koincydencja elektroniczna pozwala na bezpośrednie określenie kierunku, z którego przychodzi informacja, dlatego nie ma potrzeby stosowania dodatkowych kolimatorów. Dzięki temu czułość skanera PET jest lepsza niż w gamma kamerach. W przypadku zmian patologicznych następuje gromadzenie się znacznika w danym procesie lub miejscu w organizmie, co daje możliwość obrazowania na poziomie tkanek. W ten sposób technologia PET pozwala na rozpoznanie zmian patologicznych w ich początkowych stadiach, najszybciej spośród diagnostycznych metod obrazowania. Dzieje się tak ponieważ, zmiany biochemiczne wyprzedzają zmiany strukturalne. Niemniej jednak ograniczona rozdzielczość przestrzenna obrazów PET zmniejsza ilość informacji anatomicznych. Z tego powodu, obecnie technologia PET występuje najczęściej w fuzji z inną metodą obrazowania medycznego dającą więcej informacji strukturalnych [74 - 77].





**Rycina 13.** Okno koincydencji [78].

Wśród innych metod obrazowania medycznego można wymienić tomografię komputerową (CT) rezonans magnetyczny (MR). Tomografia komputerowa jest metodą diagnostyczną wykorzystującą promienie rentgenowskie w celu uzyskania obrazów anatomicznych, zawierających informacje o strukturze narządów i tkanek. Fuzja metod PET z CT pozwala na bardziej precyzyjne zlokalizowanie ogniska chorobowego w ciele pacjenta [79, 80].

Obecnie, spośród nowoczesnych rozwiązań diagnostycznych jest już dostępna dla pacjentów fuzja metod PET i MR. Rezonans magnetyczny wykorzystuje właściwości protonów, które są składową jądra atomu wodoru, występującego w organizmie w postaci wody. Dipole cząsteczek wody zawierające w swoim składzie protony wodoru, w silnym polu magnetycznym magnetyzują się, natomiast po usunięciu pola powracają do stanów „równowagi” wysyłając fale radiowe, które są rejestrowane przez detektory. Na ich podstawie określa się gęstość badanego obiektu jako podstawa rekonstrukcji obrazu. Jednym z celów połączenia tych dwóch technik jest uzyskanie informacji strukturalnych obrazowanego obiektu, podobnie jak w przypadku fuzji PET/CT. Przewaga PET/MR polega m.in. na lepszej wydajności obrazowania tkanek miękkich, bez dodatkowego narażania na promieniowanie jonizujące, które występuje w badaniu CT [80, 81].

## 2. Cele pracy

Przygotowanie i stosowanie radiofarmaceutyków w Polsce jest regulowane przez Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 9 listopada 2015 (Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 28 kwietnia 2022 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie wymagań Dobrej Praktyki Wytwarzania) Aneks 3 Wytwarzanie Produktów Radiofarmaceutycznych oraz Aneks 1 Wytwarzanie Sterylnych Produktów Leczniczych [82].

Metody badań oraz wymagania jakościowe produktów radiofarmaceutycznych określa Farmakopea Polska, która została przetłumaczona z Farmakopei Europejskiej [83,84].

Do przygotowania radiofarmaceutyków przeznaczone są specjalistyczne urządzenia, których funkcjonowanie musi spełniać wymagania narzucone przez wymienione akty prawne, a ich konstrukcja musi zapewniać odpowiednią ochronę przed promieniowaniem jonizującym.

Radiofarmaceutyki to preparaty medyczne zawierające w swojej strukturze izotopy promieniotwórcze nadające cząsteczkom specjalnego charakteru, jakim jest „zanik leku w czasie”, a dodatkowo czynią pracę z nimi niebezpieczną z uwagi na emitowane przez nie promieniowanie jonizujące.

Problemem badawczym, który podjęto w pracy jest to, że przepisy w wymienionych aktach prawnych oraz konstrukcja urządzeń nie w pełni uwzględniają specjalne charakterystyki radiofarmaceutyków takie jak:

- krótki okres połowicznego rozpadu izotopu użytego do znakowania, nie przekraczający 25 minut,
- niska wydajność syntezy typową dla znaczników niszowych, które nie mają potencjału komercyjnego,
- przygotowanie radiofarmaceutyków na małą skalę (<30 pacjentów), co jest typowe dla produkcji radiofarmaceutyków w warunkach szpitalnych,
- emisja promieniowania jonizującego regulowana przez Ustawę z dnia 29 listopada 2000 Prawo Atomowe [85].

Głównym celem rozprawy było zbadanie wpływu czasu potrzebnego na przygotowanie wybranych znaczników do diagnostyki onkologicznej z wykorzystaniem techniki PET, uwzględniając wymienione wytyczne i konstrukcję urządzeń do rozlewu, na końcową wydajność, którą można przeznaczyć na dawki dla pacjenta.

Z uwagi na liczbę wykonywanych doświadczeń cel główny został podzielony na cele szczegółowe:

- optymalizacja syntezy wybranych radioznaczników, w celu uzyskania najwyższej wydajności oraz czystości radiochemicznej,
- dostosowanie rozlewu serii dla wybranych znaczników na różnych typach dyspenserów porównując czas potrzebny na ich przygotowanie,
- przeprowadzenie kontroli jakości wybranych radiofarmaceutyków przy zachowaniu wymaganych kryteriów akceptacji, zgodnych z wytycznymi Farmakopei Polskiej i Europejskiej, uwzględniając czas wykonania niezbędnych badań,
- obliczenie końcowej wydajności i ilości badań PET możliwych do wykonania po przeprowadzeniu całego procesu wytwarzania, uwzględniając spadek aktywności oraz całkowitego czasu w trakcie przygotowania wybranych radiofarmaceutyków.

### 3. Materiały

Do produkcji wybranych radiofarmaceutyków użyto dwóch izotopów wyprodukowanych w cyklotronie, izotopu fluoru  $^{18}\text{F}$  ( $T_{1/2}=109,7$  minut) oraz węgla  $^{11}\text{C}$  (20,5 minut). Dla każdego izotopu wykonano syntezę dwóch radioznaczników: pierwszego zarejestrowanego w Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych oraz drugiego niezarejestrowanego, który można uznać za znacznik niszowy.

Za znacznik niszowy, należy uważać radiofarmaceutyk, który z powodu szybkiego rozpadu wbudowanego izotopu lub niskich wydajności syntezy nie nadają się do zastosowania komercyjnego.

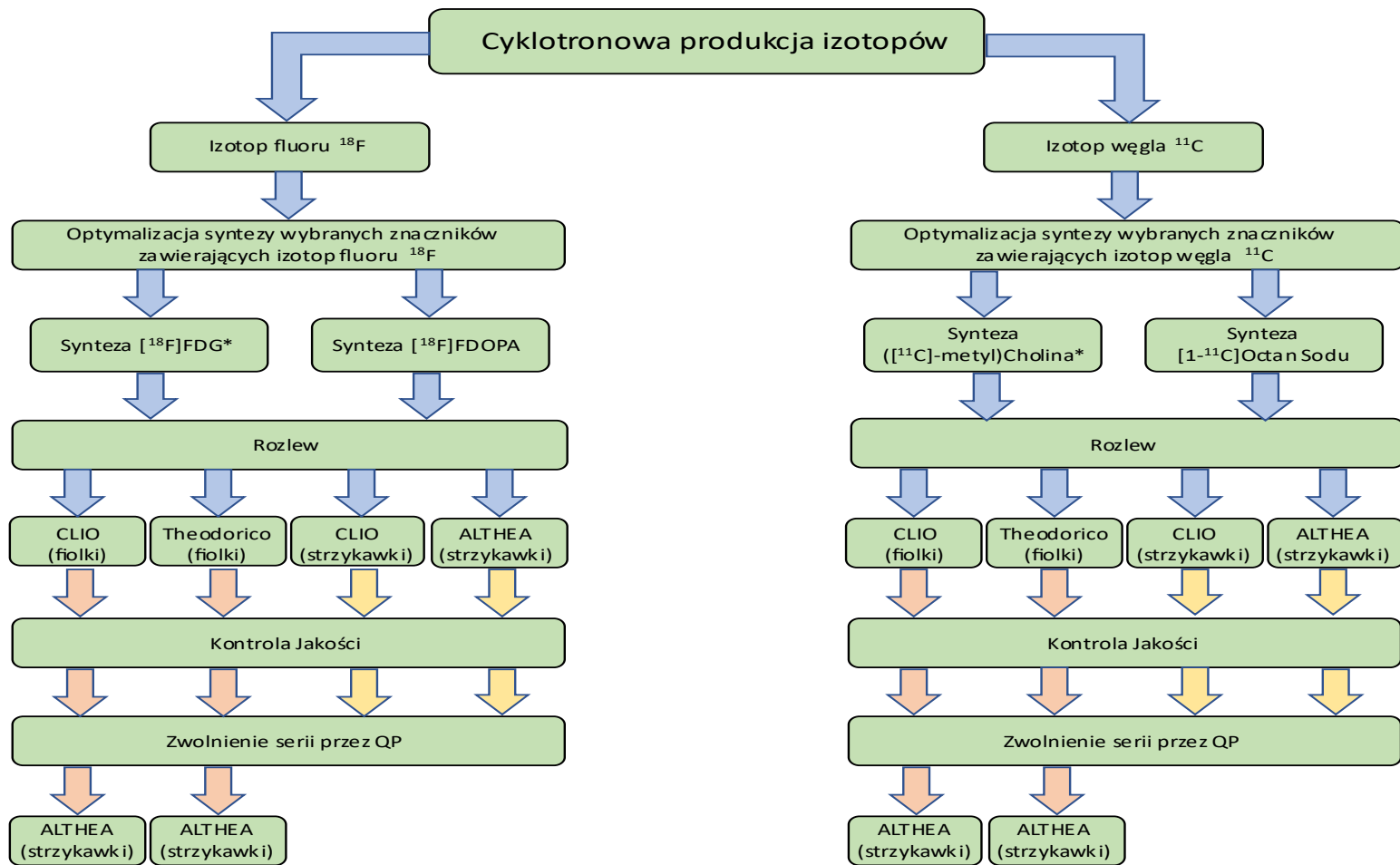
Dla izotopu fluoru  $^{18}\text{F}$  wykonano syntezę:

- $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  – znacznik zarejestrowany oraz  $[^{18}\text{F}]\text{-DOPA}$  – znacznik niezarejestrowany.

Dla izotopu węgla  $^{11}\text{C}$  wykonano syntezę:

- $[^{11}\text{C}]\text{-metyl)Cholina}$  – znacznik zarejestrowany oraz  $[1\text{-}^{11}\text{C}]\text{ Octan Sodu}$  – znacznik niezarejestrowany.

Wszystkie doświadczenia zostały przeprowadzone według kolejności przedstawionej na rycinie 14.



Rycina 14. Schemat postępowanie w trakcie prowadzenia badań.

\*Znacznik zarejestrowany w Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych.



### 3.1. Materiały do produkcji cyklotronowej

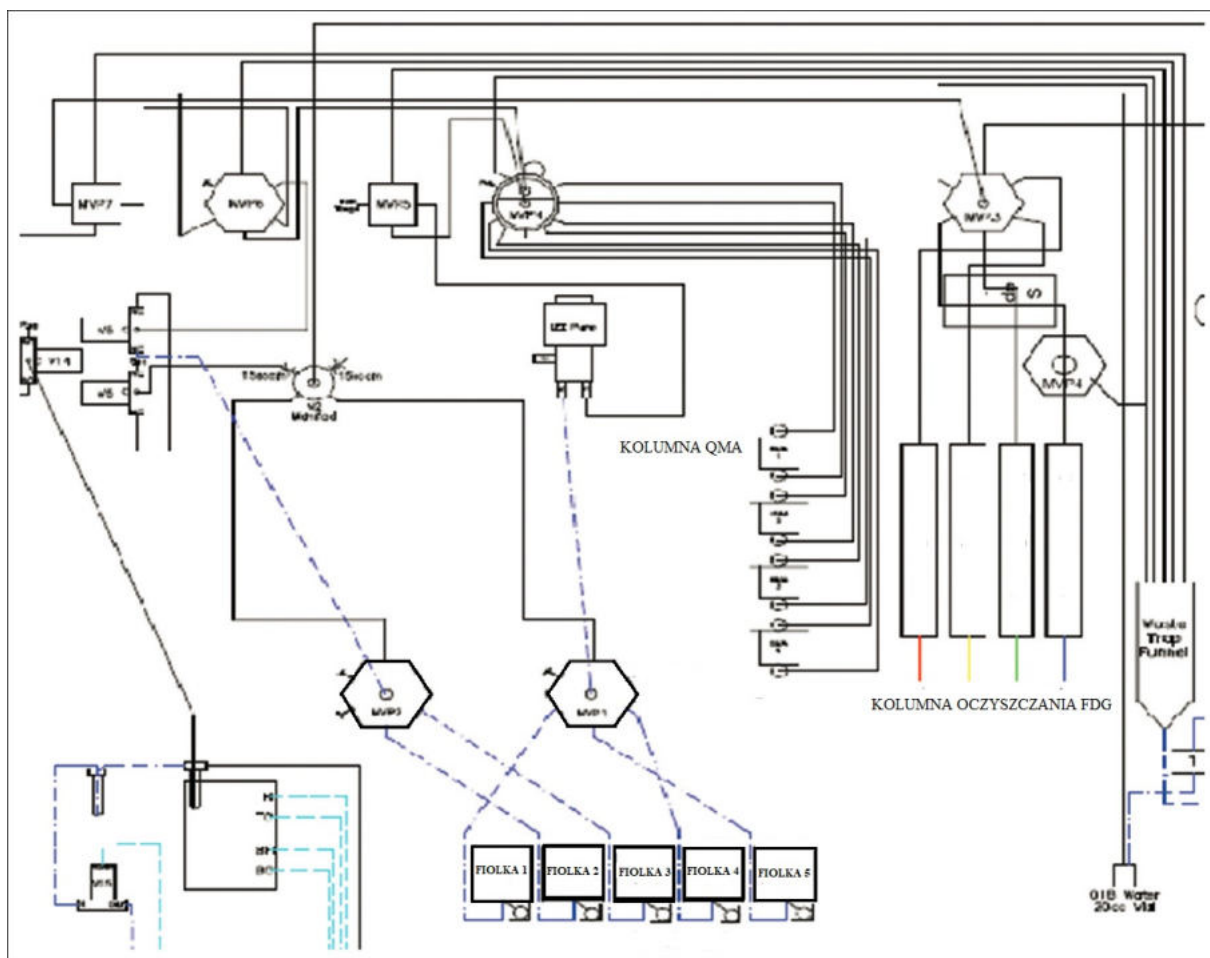
Wodę wzbogaconą w izotop tlenu [ $^{18}\text{O}$ ]H $_2\text{O}$  zakupiono od firmy Cambridge Isotope Laboratories (CIL water  $^{18}\text{O}$ , 97%). Gazy techniczne: wodór, argon oraz hel, dostarczone zostały przez firmę Linde-Gaz. Cyklotronowa produkcja izotopów fluoru  $^{18}\text{F}$  i węgla  $^{11}\text{C}$  wykonano przy użyciu Cyklotronu Eclipse 11 MeV firmy Siemens.

### 3.2. Materiały do produkcji [ $^{18}\text{F}$ ]FDG

Odczynniki chemiczne używane do syntezy [ $^{18}\text{F}$ ]FDG wraz z prekursorem triflatem mannozy (ABX 102) i kolumnami do ekstrakcji do fazy stałej (SPE) zostały zakupione w firmie ABX Advanced Biochemical Compounds GmbH (tabela 1). Wszystkie radiosyntezy i ich modyfikacje zostały przeprowadzone na module syntezy Explora FDG $_4$  firmy Siemens (rycina 15).

**Tabela 1.** Szczegóły przygotowania modułu syntezy Explora FDG $_4$ .

Fiolka/Część	Odczynnik	Ilość
Fiolka 1	Woda do iniekcji	15 mL
Fiolka 2	Acetonitryl (MeCN)	10 mL
Fiolka 3	Triflat mannozy/MeCN	50 mg/2,2 mL
Fiolka 4	MeCN/H $_2\text{O}$ / K $_2\text{CO}_3$ /K $_{222}$	1,8 mL/74,5 $\mu\text{L}$ / 6,9mg/37,3mg
Fiolka 5	HCl 1N	2,5 mL
Trap 1	Kolumna anionowymienna QMA	1 sztuka
	złoże kationowymienne	1 sztuka
Kolumna	złoże neutralizujące kwas	1 sztuka
oczyszczająca	złoże obojętnego tlenku glinu	1 sztuka
	złoże C18	1 sztuka



Rycina 15. Konfiguracja modułu syntezy Explora FDG<sub>4</sub> (zrzut ekranu z programu sterującego).



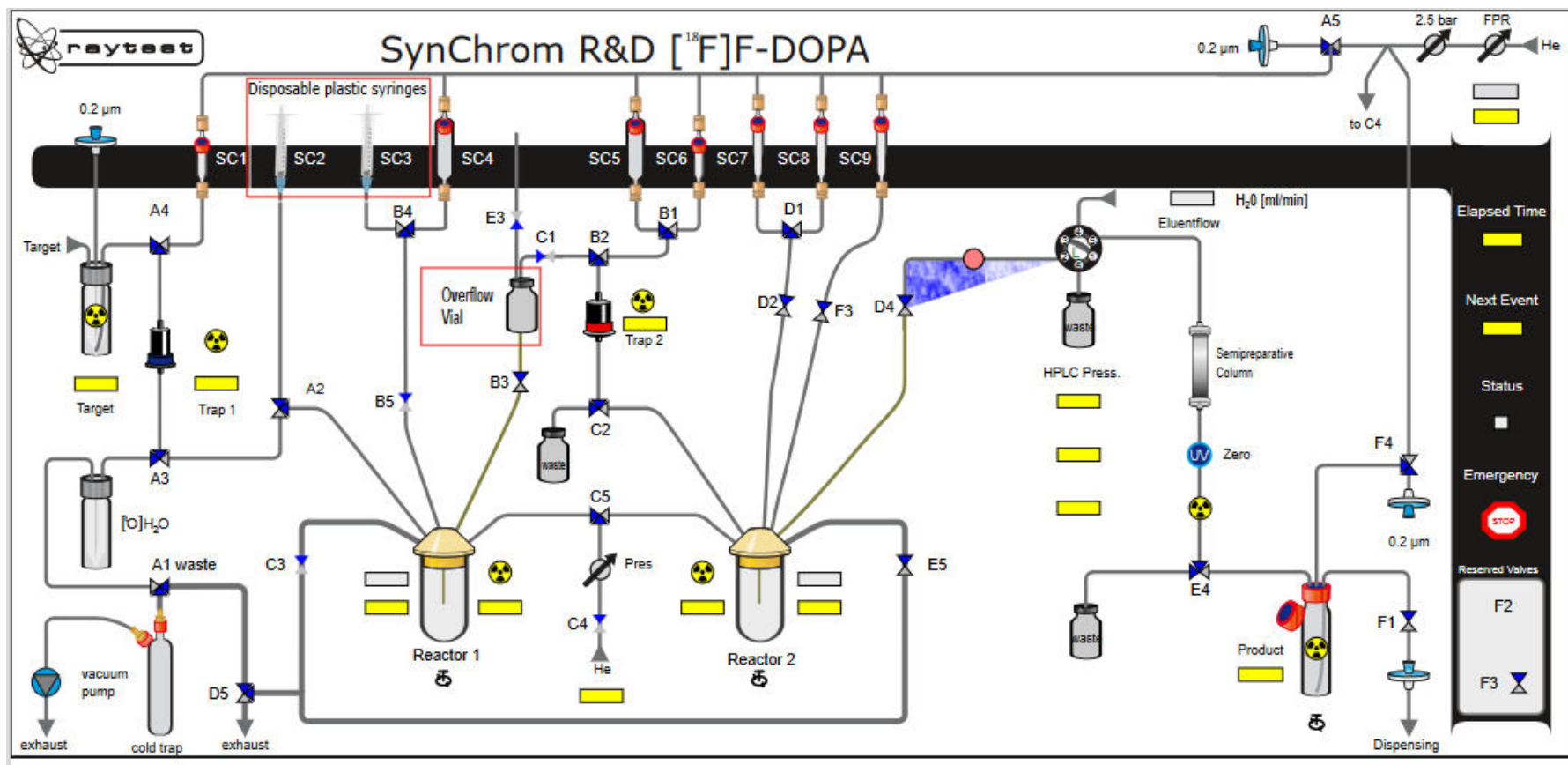
### 3.3. Materiały do produkcji [<sup>18</sup>F]F-DOPA

Odczynniki chemiczne, używane do syntezy [<sup>18</sup>F]F-DOPA, zostały zakupione w Sigma Aldrich. Prekursor do syntezy [<sup>18</sup>F]F-DOPA (2S-3-[5-formylo-4-(metoksymetoksy)-2-nitrofenylo]-2-[[trifenylometylo]amino]propanian *tert*-butylu) (ABX 1336) i TBAHCO<sub>3</sub><sup>-</sup> zostały zakupione z firmy ABX Advanced Biochemical Compounds GmbH. Kolumny SPE zostały zakupione w Waters i Macherey-Nagel (tabela 2). Radiosyntezy i ich modyfikacje zostały przeprowadzone na module syntezy Raytest SynChrom R&D (rycina 16).

**Tabela 2.** Szczegóły przygotowania modułu syntezy Raytest SynChrom R&D.

Fiolka/Część	Odczynnik	Ilość
SC1	0.075M TBAHCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> in MeCN	100 µL + 100 µL
SC2 strzykawka	MeCN	250 µL
SC3 strzykawka	Precursor (ABX 1336) in DMF	10 mg + 500 µL
SC4	MeCN/H <sub>2</sub> O	4 mL (4:1)
Fiolka przepływowa	MeCN/H <sub>2</sub> O	16 mL (4:1)
SC5	H <sub>2</sub> O	15 mL
SC6	MeCN	2 mL
SC7	mCPBA in MeCN	7 mg + 2 mL
SC8	HCl (30%) + 3% EtOH	1 mL + 30 µL
SC9	H <sub>2</sub> O	5 mL
Trap 1	Kolumna anionowymienna QMA	1 sztuka
Trap 2	C18ec	1 sztuka
Półpreparatywne HPLC	Kolumna Hamilton PRP 10 µm 250 × 10 mm H <sub>2</sub> O, przepływ 4 mL/min	-





Rycina 16. Konfiguracja modułu Raytest SynChrom R&D do syntezy [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA (zrzut ekranu z programu sterującego).

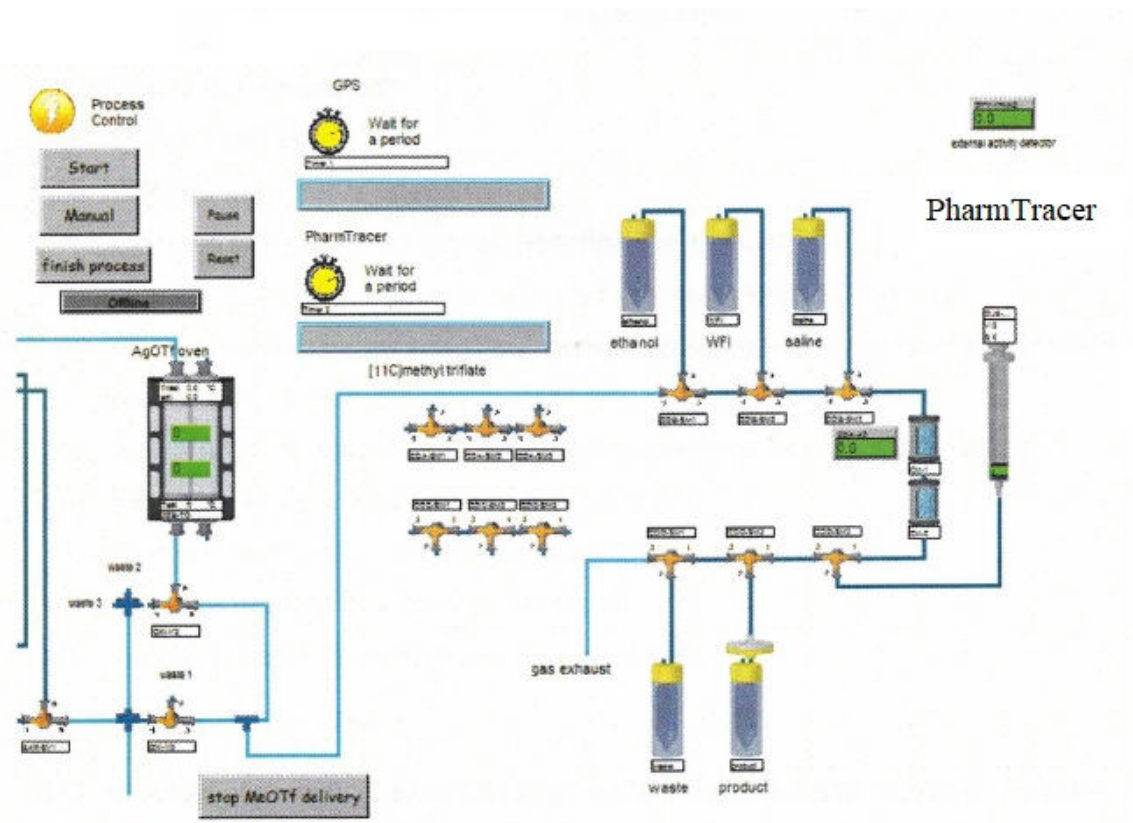
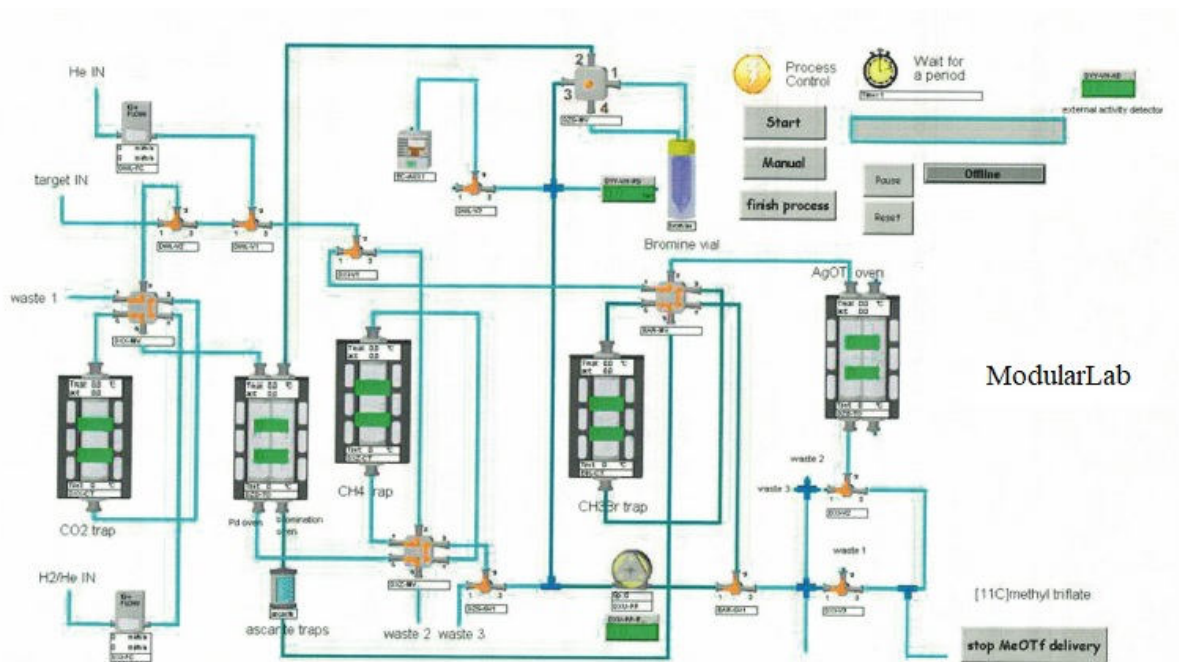


### 3.4. Materiały do produkcji ( $^{11}\text{C}$ )-metyl) Choliny

Odczynniki chemiczne używane do syntezy i kontroli jakości ( $^{11}\text{C}$ )-metyl) Choliny zostały zakupione w Sigma Aldrich. Prekursor do syntezy ( $^{11}\text{C}$ )-metyl) Choliny (dimetyloaminoetanol DMAE), z firmy Sigma Aldrich (tabela 3). Wszystkie radiosyntezy i ich modyfikacje zostały przeprowadzone na module syntezy ModularLab - PharmTracer firmy Eckert&Ziegler (rycina 17).

**Tabela 3.** Szczegóły przygotowania modułu ModularLab – PharmTracer

<b>Fiolka/Część</b>	<b>Odczynnik</b>	<b>Ilość</b>
Fiolka 1	Etanol 70%	6 mL
Fiolka 2	Woda	9 mL
Fiolka 3	NaCl 0.9%	6 mL
Trap 1	Wprowadzony DMAE	50 $\mu\text{L}$
Trap 1	Sep-Pak Accell Plus CM Kolumna do wychwytu produktu	1 sztuka
Trap 2	Sep-Pak Accell Plus CM Kolumna do oczyszczania	1 sztuka



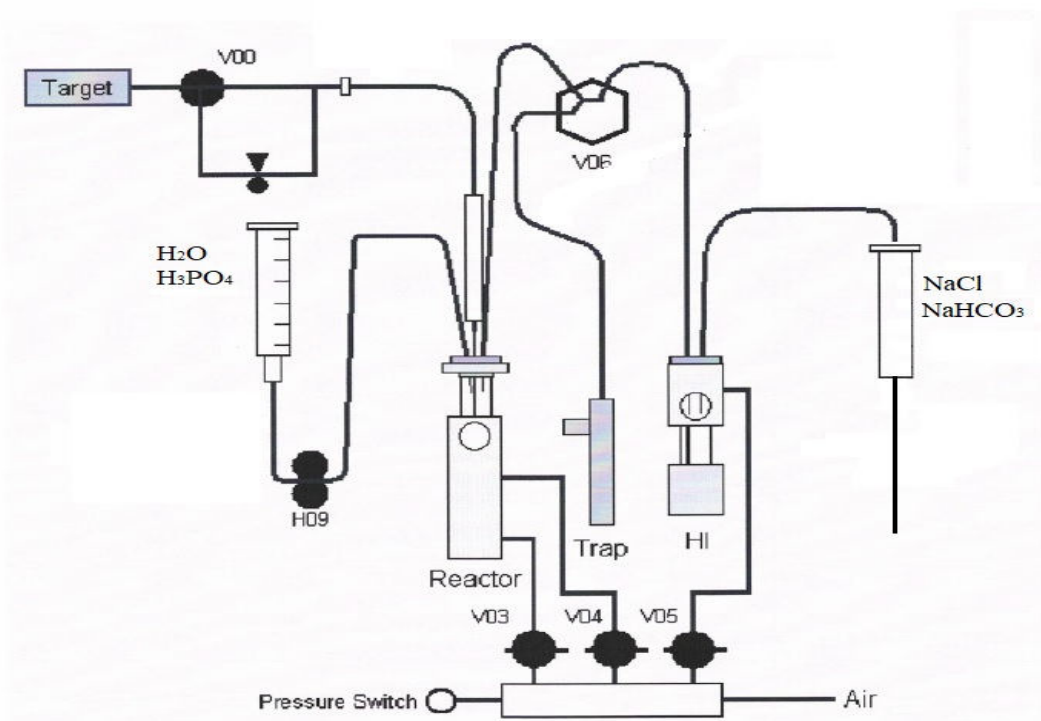
Rycina 17. Konfiguracja modułu modułu ModularLab – PharmTracer do syntezy  $[^{11}\text{C}]$ -metyl Choliny (zrzut ekranu z programu sterującego).

### 3.5. Materiały do produkcji [1-<sup>11</sup>C] Octanu Sodu

Odczynniki chemiczne używane do syntezy [1-<sup>11</sup>C] Octanu Sodu zostały zakupione w Sigma Aldrich. Prekursor do syntezy [1-<sup>11</sup>C] Octanu Sodu (3M metylobromek magnezu CH<sub>3</sub>MgBr) z firmy Sigma Aldrich (tabela 4). Wszystkie radiosyntezy i ich modyfikacje zostały przeprowadzone na module syntezy Explora AC firmy Siemens (rycina 18).

**Tabela 4.** Szczegóły przygotowania modułu syntezy Explora AC.

Fiolka/Część	Odczynnik	Ilość
Reaktor	CH <sub>3</sub> MgBr + eter	150 μL + 850 μL
Strzykawka 1	Woda	150 μL
Strzykawka 2	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	250 μL
Fiolka	NaCl 0.9% + NaHCO <sub>3</sub>	5 mL + 50 μL



**Rycina 18.** Konfiguracja modułu Explora AC do syntezy [1-<sup>11</sup>C] Octanu Sodu (zrzut ekranu z programu sterującego).

### **3.6. Materiały do rozlewu serii wybranych radiofarmaceutyków**

Materiałami użytymi do rozlewu serii były wodne roztwory radiofarmaceutyków:

- a. [<sup>18</sup>F]FDG koncentracja 3000 MBq/mL
- b. [<sup>18</sup>F]FDOPA koncentracja 300 MBq/mL
- c. ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina koncentracja 700 MBq/mL
- d. [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu koncentracja 700 MBq/mL

Do rozlewu serii wyżej wymienionych radiofarmaceutyków użyto trzech dispenserów o różnym trybie rozdozowywania. Do rozlewu użyto dedykowanych zestawów części jednorazowych firmy Comecer, filtrów sterylizujących 0,22 µm firmy Millex, fiolek firmy Huayi Isotopes oraz strzykawek firmy B.Braun.

### **3.7. Materiały do kontroli jakości wybranych radiofarmaceutyków**

- a) [<sup>18</sup>F]FDG: Wzorce do kontroli jakości zostały zakupione z firmy ABX Advanced Biochemical Compounds GmbH, LGC Standards i Chemipan. Odczynniki chemiczne używane do kontroli jakości [<sup>18</sup>F]FDG zostały zakupione w Sigma Aldrich, POCH i Machery Nagel.
- b) [<sup>18</sup>F]F-DOPA: Wzorce do kontroli jakości zostały zakupione z firmy ABX Advanced Biochemical Compounds GmbH, LGC Standards i Chemipan. Odczynniki chemiczne używane do kontroli jakości [<sup>18</sup>F]F-DOPA zostały zakupione w Sigma Aldrich, POCH i Machery Nagel.
- c) ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina: Wzorce do kontroli jakości zostały zakupione z firmy ABX Advanced Biochemical Compounds GmbH, LGC Standards i Chemipan. Odczynniki chemiczne używane do kontroli jakości ([<sup>11</sup>C]-metyl)Choliny zostały zakupione w Sigma Aldrich, POCH i Machery Nagel.
- d) [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu: Wzorce do kontroli jakości zostały zakupione z firmy ABX Advanced Biochemical Compounds GmbH, LGC Standards i Chemipan. Odczynniki chemiczne używane do kontroli jakości [1-<sup>11</sup>C]Octanu Sodu zostały zakupione w Sigma Aldrich, POCH i Machery Nagel.



## 4. Metody

### 4.1. Cyklotronowa produkcja izotopów fluoru $^{18}\text{F}$ i węgla $^{11}\text{C}$ przy użyciu Cyklotron Eclipse 11 MeV

Do źródła jonów doprowadzony został gazowy wodór, który uległ jonizacji na skutek wysokiego potencjału elektrycznego pomiędzy katodą i anodą. Zjonizowany wodór wytworzył plazmę, z której do obszaru przyspieszającego emitowano jony ujemne. Jony zostały wprowadzane pomiędzy elektrody cyklotronu tzw. duanty. Początkowo wartość potencjału elektrycznego duanta była dodatnia w celu przyciągnięcia ujemnie naładowanego jonu wodorowego. Gdy jon osiągnął brzeg duanta, nastąpiła zmiana wartości potencjału napięcia na ujemną. Zmienne pole elektryczne odpowiadało za przyspieszanie wiązki jonów, tym samym zwiększając ich energię. Przyłożone stałe pole magnetyczne zakrzywiało tor ruchu naładowanych cząstek kierując je po trajektorii spiralnej w cyklotronie. Przyspieszanie odbywało się w komorze próżniowej, aby cząstka nie traciła energii przy zderzeniach. Zbyt niska próżnia mogłaby stanowić źródło dodatkowych zanieczyszczeń radionuklidowych. Jony  $\text{H}^-$  uzyskawszy energię 11 MeV (energia wyrzutu), zostały skierowane na folię węglową, która pozbawiała aniony wodorowe dwóch elektronów. Na zmienione elektrycznie cząstki  $\text{H}^+$  działała siła o odwróconym kierunku, zakrzywiającą tor ruchu, kierując jony na tarcze cyklotronu, które zostały zbudowane z obojętnych chemicznie metali tj. tytanu, niobu i tantalu.

#### 4.1.1. Produkcja izotopu fluoru $^{18}\text{F}$

Materiałem tarczowym do produkcji fluoru  $^{18}\text{F}$  była woda wzbogacona w izotop tlenu  $^{18}\text{O}$  [ $^{18}\text{O}$ ]H<sub>2</sub>O (2,4 mL). Reakcją jądrową wykorzystywaną do otrzymania  $^{18}\text{F}$  jest  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ . Parametry prowadzenia naświetlania stanowiły: prąd wiązki 60  $\mu\text{A}$ , ciśnienie w tarczy 500 - 600 psi, czas naświetlania 2h. Na koniec bombardowania (EOB,  $t=0$ ) ilość izotopu fluoru  $^{18}\text{F}$  wynosiła średnio 120 GBq. Wyprodukowany jon  $^{18}\text{F}^-$  w 2,4 mL roztworu wodnego, został przetransportowany z tarczy cyklotronu kapilarą teflonową przy użyciu gazu pchającego do wybranego modułu syntezy:

- a. Explora FDG<sub>4</sub> firmy Siemens
- b. SynChrom R&D firmy Raytest.

### 4.1.2. Produkcja izotopu węgla $^{11}\text{C}$

System tarczy [ $^{11}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> składa się z dwóch jednostek podtrzymywania tarczy - Target Support Unit (TSU), przewodów, cylindrycznego korpusu tarczy zamontowanego w zmienniczu tarczy, folii hawarowej o grubości 0.001 cala izolującej materiał tarczy od przestrzeni zmiennicza, umożliwiając na wejście wiązki. Tarcza przed bombardowaniem załadowana była mieszaniną [ $^{14}\text{N}$ ]N<sub>2</sub> z 1-2.5% O<sub>2</sub> pod ciśnieniem 270 do 280 psi, która stanowi materiał tarczy. W czasie bombardowania wiązka przechodziła przez folię hawarową i wnikała do tarczy, gdzie została zatrzymywana przez gaz tarczy. Atomy węgla  $^{11}\text{C}$  powstały gdy cząsteczki alfa  $\alpha$  zostały wybite z atomów azotu  $^{14}\text{N}$  przez wiązkę protonów. [ $^{11}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> powstało w tarczy poprzez połączenie węgla  $^{11}\text{C}$  z tlenem zawartym w gazie tarczy.

Materiałem tarczowym do produkcji izotopu węgla  $^{11}\text{C}$  była mieszanina [ $^{14}\text{N}$ ]N<sub>2</sub> z 1-2.5% O<sub>2</sub>. Reakcją jądrową wykorzystaną do otrzymania  $^{11}\text{C}$  była  $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$ . Parametry prowadzenia naświetlania stanowiły: prąd wiązki 50  $\mu\text{A}$ , ciśnienie w tarczy 700 - 800 psi oraz czas naświetlania 1h. Na koniec bombardowania (EOB, t=0) ilość izotopu węgla  $^{11}\text{C}$  wynosiła średnio 50 GBq. Wyprodukowany gazowy [ $^{11}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> w ilości 9,5 cm<sup>3</sup> został przetransportowany z tarczy cyklotronu kapilarą teflonową przy wykorzystaniu helu jako gazu pchającego do wybranego modułu syntezy:

- a. Modular-Lab firmy Eckert&Ziegler,
- b. Explora AC firmy Siemens.

## 4.2. Automatyczna radiosynteza [<sup>18</sup>F]FDG na module Explora FDG<sub>4</sub>

W celu odseparowania jonu <sup>18</sup>F<sup>-</sup> od zanieczyszczeń obniżających jego aktywność (woda, jony metali z tarczy cyklotronu), wodny roztwór fluorku przepuszczony został przez kolumnę jonowymienną „Preconditioned Sep-PAK Light QMA Cartridge with CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> as counter ions”, wypełnionej organicznym polimerem połączonym z łańcuchami hydrowęglowymi, zawierającymi na swoich końcach grupy -NR<sup>3+</sup> pochodzące od czwartorzędowych soli amoniowych. Przeciwjonami równoważącymi ładunek dodatni końca łańcucha hydrowęglowego, były aniony węglanowe CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>.

Na kolumnie zachodziła wymiana anionów. Fluor został zatrzymywany na złożach kolumny, a woda wraz z jonami metali i CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> została usunięta do naczynia na wodę odzyskaną.

Anion fluorkowy z kolumny QMA odzyskano poprzez dwukrotną elucję wodno-acetonitrylowym roztworem Kryptofixu (Kryptand 222) i K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

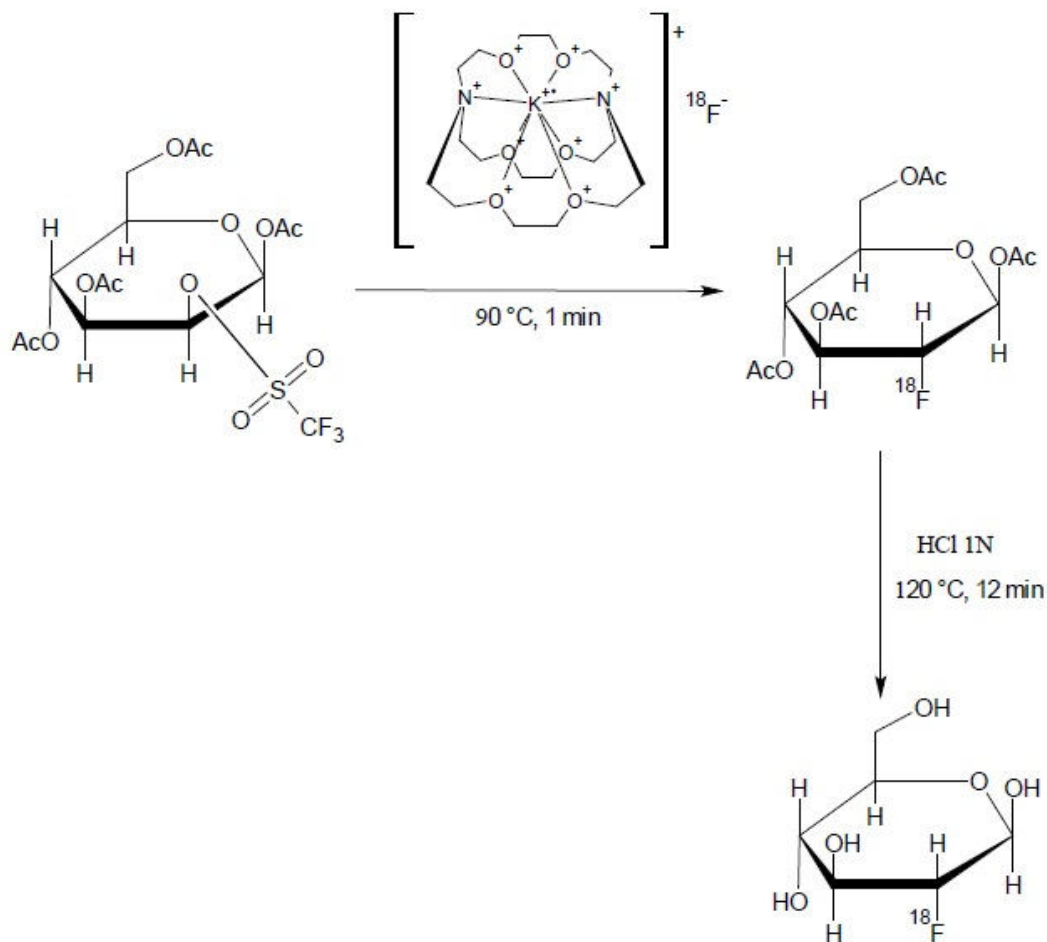
W trakcie elucji do naczynia reakcyjnego dostały się pozostałości wody, które należało usunąć. Dodany do naczynia reakcyjnego acetonitryl (MeCN) utworzył z wodą mieszaninę azeotropową. Mieszanina reakcyjna uległa odparowaniu w temperaturze 110 °C aż do całkowitej eliminacji rozpuszczalników (H<sub>2</sub>O i MeCN) w strumieniu gazu obojętnego – azotu, o czystości 5.0-6.0. Przy kompletnie suchym naczyniu reakcyjnym odczyt temperatury (z oprogramowania modułu Explora FDG<sub>4</sub>) wzrósł powyżej 110 °C. W tym momencie proces odparowania zawartości naczynia reakcyjnego został zakończony. Proces został powtórzony powtarzany jest dwukrotnie i trwał od 5 do 10 minut w zależności od przebiegu procesu suszenia.

Prekursorem zastosowanym w produkcji [<sup>18</sup>F]FDG był triflat mannozy (1,3,4,6-tetra-O-acetylo-2-O-trifluorometanosulfonylo-β-D-mannopiranoza). Użyty prekursor posiada w pozycji 2 grupę opuszczającą - trifluorometanosulfonianową (triflat), a w pozycji 1,3,4,6 grupy zabezpieczające - acetylowe. W trakcie reakcji podstawienia nukleofilowego, następowało zastąpienie grupy triflatowej izotopem fluoru <sup>18</sup>F oraz inwersja układu przestrzennego podstawników atomu węgla C2 cukru, zgodnie z mechanizmem substytucji nukleofilowej dwucząsteczkowej Sn<sub>2</sub>. Temperatura znakowania wynosiła 90°C, a proces trwał 1 minutę. Po zakończonym znakowaniu acetonitryl uległ odparowaniu. Czas odparowania

wynosił średnio 5 minut. Proces ten zachodził dla większej wydajności, pod strumieniem azotu o czystości 5.0-6.0.

Końcowym etapem syntezy było usunięcie grup zabezpieczających acetylowych. Hydroliza kwasowa tetra-acetylo[<sup>18</sup>F]FDG zachodziła przy udziale 1 N kwasu solnego (HCl) dodanego do naczynia reakcyjnego, które zostało podgrzane do temperatury 120 °C. Etap hydrolizy została przeprowadzony w trzech różnych czasach 8, 10 i 12 minut po 21 syntez. Dodatkowo wykonano po trzy syntezy dla czasów 14, 16, 18, 20 minut. W tych warunkach grupy acetylowe uległy odłączeniu i konwersji do kwasu octowego. W miejscu odłączenia, przyłączony został wodór tworząc grupy OH.

Oczyszczanie surowego produktu końcowego odbyło się pierw przez rozcieńczenie 5 mL wody, a następnie transfer mieszaniny reakcyjnej przez szereg kolumn przy użyciu 2 razy po 5 mL wody. Kolumna kationowymienna usunęła kompleksy K<sup>+</sup>/K<sub>222</sub>. Kolumna opóźniająca jony zobojętniła kwas, kolumna z obojętnym tlenkiem glinu usunęła nieprzereagowane aniony <sup>18</sup>F<sup>-</sup>, a kolumna C18 usunęła tetra-acetylo[<sup>18</sup>F]FDG (rycina 19).



**Rycina 19.** Synteza [ $^{18}\text{F}$ ]FDG przy użyciu triflattu mannozy (rysunek własny).

### 4.3. Analiza statystyczna wyników radiosyntezy [ $^{18}\text{F}$ ]FDG

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu oprogramowania STATISTICA™ 13.1 (DELL Inc., Stany Zjednoczone). Normalność rozkładu danych testowano przy użyciu testu Shapiro-Wilka. Do określenia jednorodności wariancji między grupami zastosowano test Levene'a. Wszystkie parametry wykazują brak rozkładu normalnego lub heterogeniczność wariancji. Dane wyrażono jako medianę (Me), zakres międzykwartylowy (IQR) oraz wartość minimalną-maksymalną (Min-Max). Grupy były porównywane przy użyciu testu Kruskala-Wallisa. Zastosowano poziom istotności 0,05. Wielokrotne porównania średnich rang dla wszystkich grup przeprowadzono dla zmienności o wartości p niższej od poziomu istotności.

#### 4.4. Automatyczna radiosynteza [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA na module Raytest SynChrom R&D

W celu odseparowania jonu  $^{18}\text{F}^-$  od zanieczyszczeń obniżających jego aktywność (woda, jony metali z tarczy cyklotronu), wodny roztwór fluorku przepuszczony został przez kolumnę jonowymienną „Preconditioned Sep-PAK Light QMA Cartridge with  $\text{CO}_3^{2-}$  as counter ions”, wypełnionej organicznym polimerem połączonym z łańcuchami hydrowęglowymi zawierającymi na swoich końcach grupy grupy  $-\text{NR}^{3+}$  pochodzące od czwartorzędowych soli amoniowych. Przeciwjonami równoważącymi ładunek dodatni końca łańcucha hydrowęglowego były aniony węglanowe  $\text{CO}_3^{2-}$ .

Na kolumnie zaszła wymiana anionów. Fluor został zatrzymywany na złożach kolumny, a woda wraz z jonami metali i  $\text{CO}_3^{2-}$  została usunięta do naczynia na wodę odzyskaną.

Anion fluorkowy z kolumny QMA odzyskano poprzez elucję roztworem 0.075 M wodorowęglanu tetrabutylamonionowego ( $\text{TBAHCO}_3^-$ ) w MeCN. Wykonano serię elucji izotopu fluoru  $^{18}\text{F}$  z kolumny QMA używając różnych ilości  $\text{TBAHCO}_3^-$ . Sprawdzano pozostałości fluorku  $^{18}\text{F}$  na kolumnie QMA po 12 h od elucji. Następnie wyliczono rzeczywistą ilość pozostałości  $^{18}\text{F}$  korzystając ze wzoru na czas połowicznego rozpadu.

W trakcie elucji do naczynia reakcyjnego dostały się pozostałości wody, które należało usunąć. Dlatego po elucji prowadzona była destylacja azeotropowa w temperaturze  $80^\circ\text{C}$ , przy strumieniu gazu obojętnego (argon o czystości 5.0) 800 mbar przy zastosowaniu różnych objętości  $\text{TBAHCO}_3^-$  i MeCN (tabela 5). Opary rozpuszczalników były zbierane do pułapki próżniowej zanurzonej w ciekłym azocie. Destylacja powtórzona została dwukrotnie w celu całkowitego odparowania wody, obniżającej reaktywność fluorku. Objętość acetonitrylu dodawana przy drugiej destylacji azeotropowej była zawsze wyższa o  $50\ \mu\text{L}$  niż suma objętości  $\text{TBAHCO}_3^-$  i MeCN, która znalazła się w reaktorze po odzyskaniu izotopu fluorku. Dodanie większej ilości rozpuszczalnika w drugiej destylacji umożliwiła zabranie ze ścianek reaktora kompleksu  $\text{TBAF}[^{18}\text{F}]$ , pozostałego po pierwszej destylacji azeotropowej.

**Tabela 5.** Ilości odczynników użytych do separacji i osuszenia izotopu fluoru  $^{18}\text{F}$ .

Ilość $\text{TBAHCO}_3^-$ ( $\mu\text{L}$ )	Ilość MeCN ( $\mu\text{L}$ ) (I suszenie)	Ilość MeCN ( $\mu\text{L}$ ) (II suszenie)
50	50	150
100	100	250
150	150	350
200	200	450

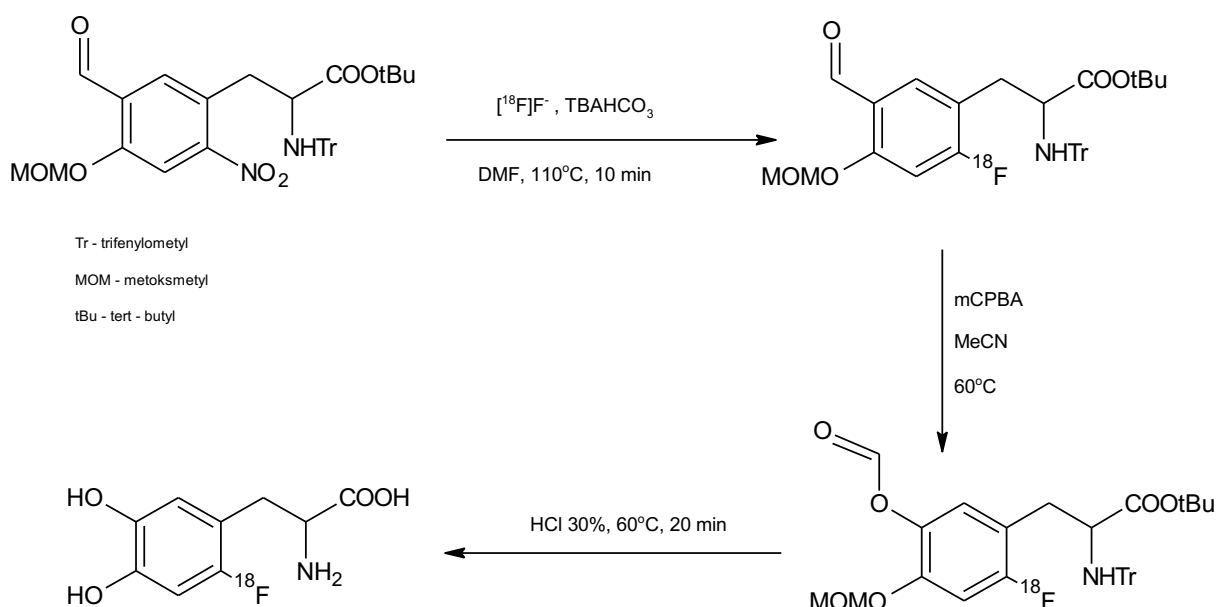
Kolejnym etapem było dodanie prekursora rozpuszczonego w dimetyloformamidzie (DMF) do pierwszego reaktora. Porównano dwie komercyjnie dostępne ilości prekursora 1336 firmy ABX (2S-3-[5-formylo-4-(metoksymetoksy)-2-nitrofenylo]-2-[(trifenylometylo)amino]propanian *tert*-butylu) 10 mg i 30 mg, rozpuszczone kolejno w 500  $\mu\text{L}$  i 1000  $\mu\text{L}$ . Temperatura znakowania wynosiła 110 °C, a proces trwał 10 minut.

Po zakończonej nukleofilowej reakcji wymiany izotopowej konieczne było usunięcie polarnego rozpuszczalnika i nieprzereagowanych reagentów. W tym celu dodano różne ilości i proporcje rozpuszczalników do reaktora i wprowadzono mieszaninę reaktorową na kolumnę oczyszczającą SPE C18ec. Zanieczyszczenia powstałe w trakcie znakowania zostały odprowadzone do zlewki. Związek pośredni został zatrzymywany na kolumnie, przepłukany  $\text{H}_2\text{O}$ , a następnie wyeluowany do drugiego reaktora przy użyciu MeCN.

W kolejnym etapie zostało przeprowadzone utlenianie związku pośredniego przy użyciu różnych ilości kwasu *m*-chloroperoksybenzoesowego (mCBPA): 10 mg, 9 mg, 8 mg, 7 mg, 6 mg, 5 mg. Proces przebiegał w temperaturze 60 °C przez 20 min. Alternatywnie przeprowadzono utlenianie w krótszym czasie 8 minut, w temperaturze 75 °C, przy użyciu 7 mg utleniacza.

Kolejnym etapem radiosyntezy  $^{18}\text{F}$ -DOPA, była hydroliza usuwająca grupy zabezpieczające. W tym celu użyto kwasu solnego HCl (30%) z dodatkiem 3% etanolu (EtOH) w stosunku do ilości HCl. Hydroliza przebiegała przez 20 minut w temperaturze 60 °C.

Oczyszczanie surowego produktu końcowego odbywało się przy użyciu metody HPLC, przez wprowadzenie mieszaniny na kolumnę półpreparatywną Hamilton PRP 10  $\mu\text{m}$  250x10mm. Użyty eluentem była woda, z przepływem 4 mL/min. Wychwyt oczyszczonego produktu z kolumny półpreparatywnej następował przez zmianę kierunku przepływu eluatu wydostającego się z kolumny do reaktora produktowego. Pik właściwy pojawił się około 10 minuty. Alternatywnie testowano metodę z użyciem kolumn SPE. W tym przypadku przepuszczenie mieszaniny reakcyjnej nastąpiło przez połączone kolumny C18/HRP (rycina 20).



**Rycina 20.** Synteza  $^{18}\text{F}$  – DOPA przy użyciu prekursora ABX 1336 (rysunek własny).



## 4.5. Automatyczna radiosynteza ( $[^{11}\text{C}]$ -metyl) Choliny na module ModularLab – PharmTracer

### 4.5.1. Produkcja $[^{11}\text{C}]$ triflatu metylu $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$ w części ModularLab

#### a. Pułapkowanie $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$

Przetransportowany do modułu syntezy gazowy  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  trafił na schłodzoną do  $-10^\circ\text{C}$  pułapkę wypełnioną carbosphere 80/100 w celu usunięcia resztek gazu pchającego. Następnie  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  został uwolniony przez podniesienie temperatury pułapki do  $60^\circ\text{C}$ .

#### b. Uwodornienie

$[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  został przesyłany do pieca palladowego zawierającego granulatu tlenku glinu przy użyciu gazu pchającego 10%  $\text{H}_2$  w helu (przepływ 150 mL/min). Temperatura pieca osiągnęła temperaturę  $600^\circ\text{C}$ . Pod wpływem wysokiej temperatury i dopływu wodoru nastąpiła konwersja  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  do metanu  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ .

#### c. Pułapkowanie $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$

$[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$  trafił na schłodzoną do  $-10^\circ\text{C}$  pułapkę wypełnioną carbosphere 80/100, następnie został uwolniony przez podniesienie temperatury pułapki do  $60^\circ\text{C}$ .

#### d. Bromowanie

Bromowanie odbyło się w systemie recyrkulacyjnej pętli znajdującej się w piecu.  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$  trafiło na pętlę, która połączona była z fiolką w Br i piecem.  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$  krążąc w pętli pod wpływem oparów bromu i temperatur:  $600^\circ\text{C}$  przez 60 s,  $640^\circ\text{C}$  przez 60 s i  $660^\circ\text{C}$  przez 90 s uległa reakcji bromowania.

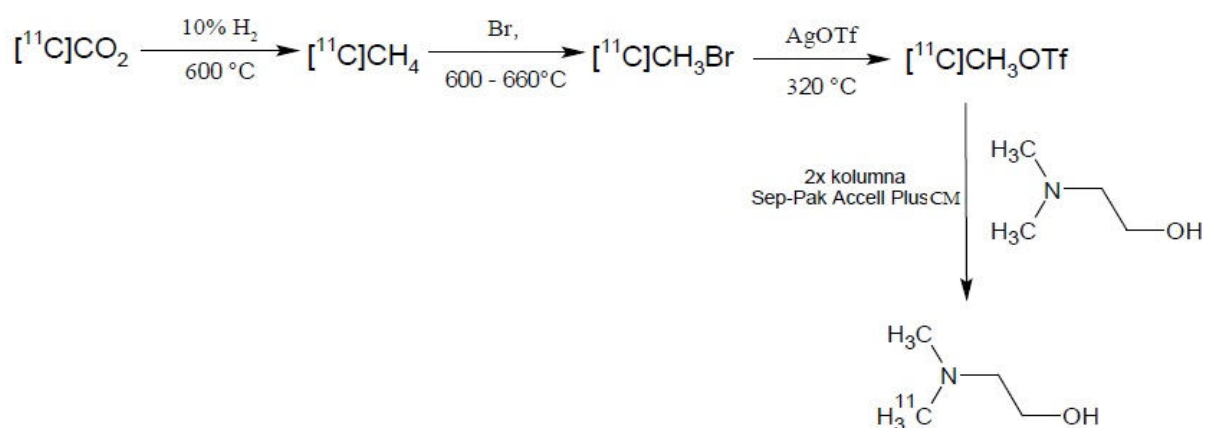
Powstały  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{Br}$  trafił na pułapkę wypełnioną carbosphere 80/100 schłodzonej do temperatury  $70^\circ\text{C}$ . Powstający w czasie bromowania nadmiar bromu i HBr, zostały wychwycone na ziarnach: Ascarite 8-20 mesh, 20-30 mesh.  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$  wracał do pętli w celu zmaksymalizowania wydajności syntezy.  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{Br}$  został uwolniony z pułapki poprzez podniesienie temperatury do  $110^\circ\text{C}$ .

#### e. Produkcja $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$

Uwolniony  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{Br}$  trafił na kolumnę wypełnioną AgOTf, podgrzaną do temperatury  $320^\circ\text{C}$ , gdzie nastąpiła wymiana grupy z Br na OTf, dając  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$ . W celu uwolnienia  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$  został otwarty zawór zwalniający i doprowadzony gaz pchający - hel (He), o przepływie 100 mL/min.

#### 4.5.2. Produkcja ([<sup>11</sup>C]-metyl)Choliny z [<sup>11</sup>C] triflattu metylu [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>OTf w części PharmTracer

- [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>OTf został przetransportowany na kolumnę Sep-Pak Accell Plus CM wypełnioną prekursorem 50 μL dimetyloamino etanol (DMAE). Na tym etapie nastąpiło przyłączenie grupy metylowej do azotu.
- Kolejnym etapem było przepłukanie kolumny 6 mL etanolu 70%, a następnie 9 mL wody w celu usunięcia pozostałości DMEA.
- Ostatnim etapem była elucja ([<sup>11</sup>C]-metyl) Choliny z kolumny przy użyciu 6 mL 0.9% NaCl (rycina 21).



**Rycina 21.** Synteza ([<sup>11</sup>C]-metyl) Choliny przy użyciu DMAE (rysunek własny).

## 4.6. Automatyczna radiosynteza [1-<sup>11</sup>C] Octanu Sodu na module Explora AC

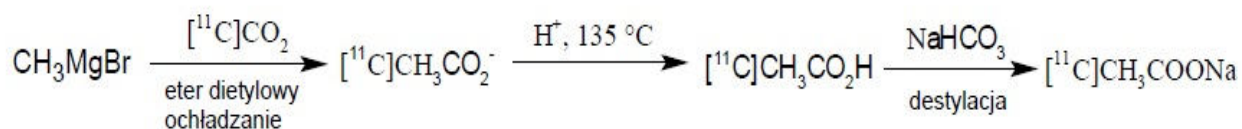
Pierwszy etap procesu polegał na przepuszczeniu dwutlenku węgla [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> przez roztwór 150 μL 3M metylobromku magnezu (CH<sub>3</sub>MgBr) w 850 μL eteru dietylowego, znajdującego się w szklanym reaktorze. Gaz z tarczy przeszedł przez zawór iglicowy. W procesie kontrolowano szybkość przepuszczania gazu przez ciecz, w trakcie dostarczania materiału tarczy.

Roztwór ochłodzono w reaktorze, aby zapobiec jego wyparowaniu podczas procedury dostarczania materiału tarczy. [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> reagował z CH<sub>3</sub>MgBr tworząc anion octanowy [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub><sup>-</sup>,

Po zakończeniu procesu dostarczania materiału tarczy, do reaktora dodano wodę, aby ugasić nieprzereagowany CH<sub>3</sub>MgBr. Porównano różne ilości wody (50 - 250 μL). Następnie podgrzano próbkę do temperatury 135°C w celu odparowania rozpuszczalników pod strumieniem wymiatającego helu z tarczy. Na tym etapie również kontrolowano szybkość przepływu gazu.

Po zakończeniu odparowywania rozpuszczalników, zawartość reaktora została ochłodzona, celem przygotowania reaktora do dodania kwasu fosforowego (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). Kwas reagował z anionem octanowym [<sup>11</sup>C] tworząc [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H. Porównano różne ilości dodawania kwasu (50 - 350 μL).

[<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H podlegał destylacji z reaktora do fiołki z produktem pośrednim, która zawierał zasadowy roztwór soli kuchennej 5 mL i 50 μL dwuwęglanu sodu. [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H reagował z dwuwęglanem sodu tworząc octan sodu [1-<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>COONa (rycina 22).



**Rycina 22.** Synteza [1-<sup>11</sup>C] Octanu Sodu przy użyciu odczynnika Grignarda (rysunek własny).

## **4.7. Rozlew serii wybranych radiofarmaceutyków na różnych typach dyspenserów**

### **4.7.1. Dyspenser Theodorico**

W programie obsługującym dyspenser Theodorico została utworzona lista przeznaczenia danej fiołki. Lista ta zawierała informację do ilu fiołek zostanie rozdozowany produkt, w jakiej kolejności i w jakich ilościach.

Przeznaczenie fiołek do rozlewu (Fiołki poboczne: 1-6):

1. Zlewki - celem było wypełnienie linii wybranym radiofarmaceutykiem – 1 mL
2. Kontrola jakości - badania fizykochemiczne - 1,5 mL
3. Kontrola jakości badanie LAL (endotoksyny bakteryjne) - 1,5 mL
4. Kontrola jakości - badanie B – 2 mL
5. Badania mikrobiologiczne – jałowość – 3 mL
6. Archiwum – 3 mL
7. Pozostałe fiołki zostały przeznaczone na potrzeby obliczenia ilości pozostałej do wykorzystania dla pacjentów.

Wyprodukowany radiofarmaceutyk, w wybranym module syntezy, został przesłany przez pierwszy filtr sterylizujący 0,22µm do naczynia zbiorczego o pojemności 500 mL – bulk. Przyrost obciążenia pochodzącego od przesyłanego płynu na wadze zbiorczej (bulk) świadczyła o rozpoczęciu transferu. Po zakończeniu transferu wprowadzono do programu sterującego dyspenserem parametry rozcieńczania radiofarmaceutyku. Parametry rozcieńczenia dostosowane zostały do wydajności syntezy, czasu rozpadu radiofarmaceutyku oraz czasu potrzebnego na kontrolę jakości, niezbędną do zwolnienia produktu do użytku dla pacjenta. Po rozcieńczeniu nastąpiło uruchomienie rozdozowania rozcieńczonego radiofarmaceutyku do fiołek. Robot automatycznie pobrał zaznaczone fiołki, ściągnął kapsel i korek, a fiołkę ustawił na wadze fiołkowej (filling). Po ustawianiu fiołki na wadze nastąpiło jej napełnienie rozcieńczonym radiofarmaceutykiem przez drugi filtr sterylizujący 0,22µm wg danych z wcześniej utworzonej listy. Po zakończeniu napełniania ramię robota kolejno, korkowało, kapslowało, a następnie przenosiło fiołkę do kalibratora dawki, gdzie następował pomiar aktywności i sprawdzenie czy aktywność zgadza się z wyliczoną aktywnością przez program sterujący. Następnie fiołka trafiła na tackę i nastąpiło jej wydanie do kontenera ołowianego. Po zakończeniu procesu rozlewu serii wykonany został test integralności drugiego filtra sterylizującego 0,22 µm bubble point test (BPT).

### 4.7.2. Dyspenser Clio

W programie obsługującym dyspenser Clio została utworzona lista przeznaczenia danej fiołki lub strzykawki. Lista ta zawierała informację do ilu fiołek lub strzykawek będzie rozdozowany produkt, w jakiej kolejności i w jakich ilościach.

Przeznaczenie fiołek/strzykawek do rozlewu (Fiołki/strzykawki poboczne: 1-6):

1. Zlewki - celem było wypełnienie linii wybranym radiofarmaceutykiem – 1 mL
2. Kontrola jakości - badania fizykochemiczne - 1,5 mL
3. Kontrola jakości badanie LAL (endotoksyny bakteryjne) - 1,5 mL
4. Kontrola jakości - badanie B – 2 mL
5. Badania mikrobiologiczne – jałowość – 3 mL
6. Archiwum – 3 mL
7. Pozostałe fiołki przeznaczone zostały na potrzeby obliczenia ilości pozostałej do wykorzystania dla pacjentów.

Wyprodukowany radiofarmaceutyk, w wybranym module syntezy, został przesłany przez pierwszy filtr sterylizujący 0,22 $\mu$ m do naczynia zbiorczego o pojemności 100 mL – bulk. Przyrost obciążenia pochodzącego od przesyłanego płynu na wadze zbiorczej (bulk) świadczyła o rozpoczęciu transferu. Po zakończeniu transferu dyspenser automatycznie obliczył koncentrację. Po obliczeniu koncentracji wprowadzono do programu sterującego dyspenserem parametry rozcieńczania radiofarmaceutyku. Parametry rozcieńczenia dostosowane zostały do wydajności syntezy, czasu rozpadu radiofarmaceutyku oraz czasu potrzebnego na kontrolę jakości, niezbędną do zwolnienia produktu do użytku dla pacjenta.

Po rozcieńczeniu nastąpiło uruchomienie rozdozowania rozcieńczonego radiofarmaceutyku do fiołek lub strzykawek. Przy pomocy chwytaka ustawiono odpowiednią fiołkę lub strzykawkę w kieszonce robota. Robot automatycznie ściągnął kapsel i korek lub pobrał strzykawkę z korkiem i wkuwał w nią igły. Po tej czynności nastąpiło napełnienie rozcieńczonym radiofarmaceutykiem, przez drugi filtr sterylizujący 0,22 $\mu$ m wg danych z wcześniej utworzonej listy. Po zakończeniu napełniania robot kolejno, zakorkował, zakapslował fiołki. Następnie przy użyciu chwytaka operator przeniósł fiołkę lub strzykawkę do kalibratora dawki, gdzie następował pomiar aktywności i sprawdzenie czy aktywność zgadza się z wyliczoną aktywnością przez program sterujący. Następnie fiołka została przeniesiona na tackę i nastąpiło jej wydanie do kontenera ołowianego. Po zakończeniu procesu rozlewu serii wykonany został test BPT drugiego filtra sterylizującego 0,22  $\mu$ m.

### 4.7.3. Dyspenser Althea

W programie obsługującym dyspenser Althea nie było możliwości utworzenia listy przeznaczenia danej strzykawki. W przypadku tego dyspensera informacje o przeznaczeniu wprowadzono ręcznie przy każdej strzykawce (strzykawki poboczne: 1-6).

Aktywności w strzykawkach dla poszczególnych znaczników były wartościami najwyższych aktywności, potrzebnych do wykonania badania osoby o masie 70 kg wg. wykazu wzorcowych procedur radiologicznych z zakresu medycyny nuklearnej.

Przeznaczenie strzykawek do rozlewu dla:

- **[<sup>18</sup>F]FDG**

1. Zlewki - celem było wypełnienie linii wybranym radiofarmaceutykiem – 490 MBq w 5 mL
2. Kontrola jakości - badania fizykochemiczne – 490 MBq w 5 mL
3. Kontrola jakości badanie LAL (endotoksyny bakteryjne) – 490 MBq w 5 mL
4. Kontrola jakości - badanie B – 490 MBq w 5 mL
5. Badania mikrobiologiczne – jałowość – 490 MBq w 5 mL
6. Archiwum – 490 MBq w 5 mL
7. Pozostałe strzykawki przeznaczone zostały na potrzeby obliczenia ilości pozostałej do wykorzystania dla pacjentów.

- **[<sup>18</sup>F]F-DOPA**

1. Zlewki - celem było wypełnienie linii wybranym radiofarmaceutykiem – 280 MBq w 5 mL
2. Kontrola jakości - badania fizykochemiczne – 280 MBq w 5 mL
3. Kontrola jakości badanie LAL (endotoksyny bakteryjne) – 280 MBq w 5 mL
4. Kontrola jakości - badanie B – 280 MBq w 5 mL
5. Badania mikrobiologiczne – jałowość – 280 MBq w 5 mL
6. Archiwum – 280 MBq w 5 mL
7. Pozostałe strzykawki przeznaczone zostały na potrzeby obliczenia ilości pozostałej do wykorzystania dla pacjentów.

- **(<sup>11</sup>C)-metyl)Cholina**

1. Zlewki - celem było wypełnienie linii wybranym radiofarmaceutykiem – 350 MBq w 5 mL
2. Kontrola jakości - badania fizykochemiczne – 350 MBq w 5 mL
3. Kontrola jakości badanie LAL (endotoksyny bakteryjne) – 350 MBq w 5 mL
4. Kontrola jakości - badanie B – 350 MBq w 5 mL
5. Badania mikrobiologiczne – jałowość – 350 MBq w 5 mL
6. Archiwum – 350 MBq w 5 mL
7. Pozostałe strzykawki przeznaczone zostały na potrzeby obliczenia ilości pozostałej do wykorzystania dla pacjentów.

- **[<sup>11</sup>C] Octan Sodiu**

1. Zlewki - celem było wypełnienie linii wybranym radiofarmaceutykiem – 1190 MBq w 5 mL
2. Kontrola jakości - badania fizykochemiczne – 1190 MBq w 5 mL
3. Kontrola jakości badanie LAL (endotoksyny bakteryjne) – 1190 MBq w 5 mL
4. Kontrola jakości - badanie B – 1190 MBq w 5 mL
5. Badania mikrobiologiczne – jałowość – 1190 MBq w 5 mL
6. Archiwum – 1190 MBq w 5 mL
7. Pozostałe strzykawki przeznaczone zostały na potrzeby obliczenia ilości pozostałej do wykorzystania dla pacjentów.

Wyprodukowany radiofarmaceutyk, w wybranym module syntezy, został przesłany przez filtr sterylizujący 0,22µm do fiolki zbiorczej o pojemności 30 mL – bulk. Po zakończeniu transferu fiolka wraz z radiofarmaceutykiem została zważona na wadze. Otrzymany wynik pomniejszono o wagę pustej fiolki. Fiolka została wprowadzana automatycznie do kalibratora dawki. Po pomiarze aktywności ręcznie wprowadzono odpowiednią ilość NaCl 0.9% w celu uzyskania określonej koncentracji radiofarmaceutyku. Następnie wprowadzono wyliczoną masę radiofarmaceutyku do programu sterującego Althea, w celu obliczenia jego koncentracji.

Do programu Althea wprowadzono oczekiwaną aktywność oraz ilość soli jaką ta aktywność ma zostać rozcieńczona. Robot automatycznie pobrał strzykawkę z korkiem i wkuł w nią igły. Po tej czynności nastąpiło napełnienie stężonym radiofarmaceutykiem oraz rozcieńczenie solą w strzykawce i jednocześnie nasąpił pomiar w kalibratorze dawki. Sprawdzone również czy otrzymana aktywność zgadza się z tą wyliczoną przez program sterujący.

Po zakończeniu procesu rozlewu serii wykonany został test integralności drugiego filtra sterylizującego 0,22 µm bubble point test (BPT) w dyspenserze Theodorico, z uwagi na brak tej funkcji w dyspenserze Althea.

## 4.8. Metody użyte do przeprowadzenia kontroli jakości wybranych radiofarmaceutyków

Wszystkie użyte w pracy metody kontroli jakości były oparte o wytyczne Farmakopei Polskiej wydanie XII [83] oraz Farmakopei Europejskiej wydanie X [84] monografia:

- a. Fludeoxyglucosi ( $^{18}\text{F}$ ) Solutio Iniectabilis 01/2014:1325,
- b. Fluorodopae ( $^{18}\text{F}$ ) ab nucleophila substitutione solutio iniectionis 04/2019: 2481,
- c. Cholini ( $^{11}\text{C}$ )methyl) Solutio Iniectionis 04/2018:2462,
- d. Natrii Acetatis ( $^{11}\text{C}$ ) Solutio Iniectionis 01/2008:1920.

Ocena pozostałości rozpuszczalników została wykonana zgodnie z metodyką opisaną w rozdziale 5.4 „Pozostałości rozpuszczalników”. Endotoksyny bakteryjne zgodnie z rozdziałem 2.6.1.4. „Endotoksyny bakteryjne”. Natomiast Jałowość zgodnie z rozdziałem Radiopharmaceutica 07/2016:0125.

### 4.8.1. [ $^{18}\text{F}$ ]FDG

#### 4.8.1.1. Wygląd

Zanieczyszczenia cząstkami innymi niż pęcherzyki powietrza, określa się jako mimowolne nierozpuszczalne substancje, zdolne do przemieszczania się w preparatach płynnych.

W celu wykluczenia zanieczyszczeń cząstkami preparat delikatnie zawirowano, tak aby nie wprowadzić pęcherzyków powietrza i obserwowano na tle białego ekranu, a następnie na tle czarnego ekranu.

Wartości graniczne: przezroczysty roztwór bez widocznych gołym okiem cząstek stałych, bezbarwny lub jasnożółty.

#### 4.8.1.2. Okres półtrwania

Określenie przybliżonego okresu półtrwania izotopu fluoru [ $^{18}\text{F}$ ] w trybie bezpośrednim (ang. stand-alone), z użyciem komory jonizacyjnej i miernika aktywności CURIEMENTOR 4.

Podczas pomiaru przybliżonego okresu półtrwania wykonano co najmniej trzy pomiary w okresie nie krótszym niż  $\frac{1}{4}$  spodziewanego okresu półtrwania – w czasie  $t=0.0$  min.,  $t=15$  min. oraz  $t=30$  min. Następnie skorzystano z zależności pomiędzy stałą rozpadu, a okresem półtrwania ( $\lambda=\ln 2/T_{1/2}$ ) i obliczono czas  $T_{1/2}$ .

Wartości graniczne: wartość pomiaru powinna mieścić się w zakresie od 105 do 115 min.



#### 4.8.1.3. Czystość radiochemiczna i chemiczna – metoda HPLC

Czystość radiochemiczna i chemiczna roztworu [<sup>18</sup>F]FDG została zbadana metodą HPLC (urządzenie wielomodułowe firmy SHIMADZU) przy zastosowaniu szeregowo połączonych detektorów - radiometrycznego (kryształ scyntylicyjny NaI 3x3 cala) firmy Raytest i elektrochemicznego Decade II (złota elektroda, firmy Antec). Do analizy użyto kolumny do chromatografii jonowymiennej, dedykowanej do rozdziału węglowodanów – Dionex CarobPac (250x4; 10 μm) z przedkolumną zatrzymującą aminokwasy – Dionex (50x4). Obie kolumny znajdowały się w termostatowanym piecu, w którym utrzymano stałą temperaturę 25°C. Fazą ruchomą był wodny roztwór NaOH, o stężeniu 0,1 M, przygotowany z 50% roztworu NaOH (SIGMA) oraz wody HPLC (POCH), odgazowany helem zarówno podczas kondycjonowania kolumny jak i analizy. Objętość nastrzyku wynosiła 10 μL. Po zakończeniu analizy otrzymane z obu detektorów chromatogramy zostały integrowane przy użyciu oprogramowanie LabSolution. Na chromatogramie otrzymanym z detektora radiometrycznego oceniono czystość radiochemiczną w postaci procentowej zawartości fluoru-18 w postaci 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-D-glukozy i 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-D-mannozy. Na chromatogramie otrzymanym z detektora elektrochemicznego oceniono czystość chemiczną zawartości 2-chloro-2-deoksy-D-glukozy (CIDG).

Wartości graniczne: czystości radiochemicznej badanej metodą HPLC

a. fluor-18 w postaci 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-D-glukozy i 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-D-mannozy nie mniej niż 95% całkowitej radioaktywności fluoru -18.

b. zawartość 2-chloro-2-deoksy-D-glukozy (CIDG) w ilości ≤ 0,5 mg / V; gdzie V= 5mL, czyli ≤ 0,1 mg/mL.

#### 4.8.1.4. Endotoksyny bakteryjne

a. Metoda I

Do badania endotoksyn bakteryjnych (test LAL) użyto: spektrometru ELx 808 firmy LONZA. Przygotowano szereg rozcieńczeń endotoksyny w wodzie apirogennej do krzywej kalibracyjnej (50, 0,5, 0,05, 0,005 EU/mL) ze standardu zawierającego 50 EU/mL. Przygotowane roztwory naniesiono w ilości 100 μL na płytkę wielodołkową LAL. Dołki A1 i A2 to woda LAL (próba zerowa), dołki od B do F w pozycjach 1 i 2 – krzywa kalibracyjna, pozostałe dołki to próba badana. Przygotowano próbkę badaną [<sup>18</sup>F]FDG, którą rozcieńczono

w następujący sposób: 740 uL wody i 10 uL próbki (75x). Każdą próbę badaną naniesiono po 100 µL w 4 powtórzeniach. Odczyt nastąpił po około 60 minutach.

#### b. Metoda II

Do badania endotoksyn bakteryjnych (test LAL) użyto spektrofotometru Nexgen-PTS firmy Charles River i gotowych płytek do badania endotoksyn firmy Charles River PTS20005F 0,005 EU/mL FDA. Przygotowano rozcieńczoną próbkę FDG używając 740 uL wody apirogennej i 10 uL próbki (75x). Do 4 dołków płytki, naniesiono po 25 uL rozcieńczonej próbki FDG. Krzywa wzorcowa została wbudowana w płytkę. Odczyt nastąpił po 45 minutach. Następnie raport wygeneruje się automatycznie w oparciu o krzywą kalibracyjną. Wynik został przemnożony przez rozcieńczenie w oprogramowaniu.

Wartości graniczne metoda I i II: zawartości endotoksyn bakteryjnych w ilości  $\leq 175 \text{ EU/V}$  EU/mL; gdzie  $V=5 \text{ mL}$ , czyli  $\leq 35 \text{ EU/mL}$ .

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

#### **4.8.1.5. GC pozostałości rozpuszczalników**

Do badania zawartości rozpuszczalników rezydualnych posłużył chromatograf gazowy GC firmy Agilent z użyciem detektora płomieniowo-jonizacyjnego (FID) i kolumny Zebron ZB-WAXplus 30m L x 0.53mm x 1.00 µm. Gazem nośnym był hel 6.0.

Wartości graniczne dla badanych rozpuszczalników badanych metodą GC:

- a. etanol w ilości  $\leq 50 \text{ mg/mL}$ , gdzie  $V=5 \text{ mL}$ , czyli  $\leq 10 \text{ mg/mL}$
- b. acetonitryl w ilości  $\leq 4.1 \text{ mg/mL}$ , gdzie  $V=5 \text{ mL}$ , czyli  $\leq 0.82 \text{ mg/mL}$
- c. metanol w ilości  $\leq 30 \text{ mg/mL}$ , gdzie  $V=5 \text{ mL}$ , czyli  $\leq 6 \text{ mg/mL}$

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

#### **4.8.1.6. Czystość radiochemiczna – metoda TLC**

Ocena czystości radiochemicznej roztworu [ $^{18}\text{F}$ ]FDG została przeprowadzona w oparciu o metodę chromatografii cienkowarstwowej TLC. Jako fazę ruchomą użyto roztworu acetonitryl/woda (Acetonitrile for HPLC; SIGMA, woda do HPLC; POCH) sporządzonego w proporcji 95/5, jako fazę nieruchomą płytek TLC Silica gel F<sub>254</sub>. Na podstawie wyników analiz możliwe było określenie zawartości procentowej fluoru-18 w postaci 2- $^{18}\text{F}$ fluoro-2-deoksy-D-glukozy i 2- $^{18}\text{F}$ fluoro-2-deoksy-D-mannozy oraz zanieczyszczeń radiochemicznych:

fluoru-18 w postaci fluorku oraz częściowo lub całkowicie acetylowanych pochodnych 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-D-glukozy i 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-D-mannozy.

Wartości graniczne czystości radiochemicznej badanej metodą TLC:

a. fluor-18 w postaci 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-D-glukozy i 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-D-mannozy nie mniej niż 95% całkowitej radioaktywności fluoru -18.

b. fluor-18 w postaci fluorku oraz częściowo lub całkowicie acetylowanych pochodnych 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-D-glukozy i 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-D-mannozy nie więcej niż 5% całkowitej radioaktywności fluoru -18.

#### **4.8.1.7. Wartość pH**

Wartość pH roztworu była badana metodą potencjometryczną z zastosowaniem mikroelektrody firmy SI Analytics i pH-metru Mi 150 oraz pHmetru InoLab pH 7110 BNC firmy Martini, poprzez zanurzenie elektrody bezpośrednio w roztworze badanego radiofarmaceutyku. Przed rozpoczęciem pracy pH-metr został skalibrowany na dwa roztwory buforowe o pH 4.1 i 7.1 firmy Millwaukee. Dokonano odczytu pH po ustabilizowaniu się wartości na wyświetlaczu urządzenia.

Wartości graniczne: pH w zakresie 4.5 do 8.5

#### **4.8.1.8. Tożsamość radionuklidowa**

Spektrometrię promieniowania gamma zbadano przy użyciu analizatora wielokanałowego MUCHA firmy Elysia-Raytest z użyciem detektora NaI. Kroplę rozcieńczonej, do zakresu oznaczalności przez detektor, próbki FDG naniesiono na bibułę Whatman. Po wprowadzeniu je do komory detektora przeprowadzono oznaczenie, które trwało 5 minut. Wynik analizy został oparty o wcześniejszą kwalifikację urządzenia z użyciem wzorcowego źródła kalibracyjnego <sup>137</sup>Cs.

Wartości graniczne: główne fotony gamma posiadają energię 0,511 MeV. W zależności od geometrii pomiaru, może zostać zaobserwowany pik sumy wynoszący 1,022 MeV.

#### **4.8.1.9. Czystość radionuklidowa badanie A**

Spektrometrię promieniowania gamma zbadano przy użyciu analizatora wielokanałowego MUCHA firmy Elysia-Raytest. FDG rozcieńczono w fiolce do zakresu detekcji urządzenia. Po wprowadzeniu je do komory detektora przeprowadzono oznaczenie, które

trwało 5 minut. Wynik analizy został oparty o wcześniejszą kwalifikację urządzenia z użyciem wzorcowego źródła wieloizotopowego.

Badanie A: pomiar wykonano w trakcie innych analiz kontroli jakości tego samego dnia.

Wartości graniczne: piki w widmie gamma, odpowiadające fotonom o energii innej niż 0,511 MeV lub 1,022MeV, stanowiły nie więcej niż 0,1% całkowitej radioaktywności.

#### **4.8.1.10. Zawartość kryptofixu zanieczyszczenie B – badanie plam**

Badanie zawartości kryptofixu (zanieczyszczenie B) wykonano w oparciu o metodę porównawczą plam. Z dużej płytki DC - fertigfolien POLYGRAM SIL G/UV 254 wycięto pasek o rozmiarach 5 cm dł. na 2 cm szer. Do rynienki wiano odczynnik jodoplatynowy. Zanurzono wycięte paski, tak aby pokryły się dokładnie odczynnikiem. Pozostawiono w ciemności do wyschnięcia. Roztwór porównawczy Kryptofixu przygotowano zgodnie z Farmakopeą Polską. Rozpuszczono 11,0 mg aminopolieteru w wodzie i uzupełniono rozpuszczalnikiem do 5,0 mL. Uzupełniono 1 mL roztworu wodą do objętości V, gdzie V jest największą zalecaną dawką w mililitrach ( $V=5\text{mL}$ ). Końcowe stężenie Kryptofixu wyniosło 44 mg/mL. Na przygotowaną płytkę naniesiono 2,5  $\mu\text{L}$  roztworu porównawczego – wody, użytej do rozcieńczenia (plama 1), obok nanoszono 2,5  $\mu\text{L}$  roztworu porównawczego Kryptofixu (plama 2), a następnie obok 2,5  $\mu\text{L}$  roztworu badanego i 2,5  $\mu\text{L}$  roztworu porównawczego Kryptofixu na to samo miejsce (plama 3). Porównano wizualnie plamy w czasie 1 min po naniesieniu.

Wartości graniczne: środkowa część plamy roztworu badanego jest mniej intensywna niż plama roztworu porównawczego ( $\leq 2.2 \text{ mg/V}$ , gdzie  $V=5\text{mL}$ , czyli  $\leq 0.44 \text{ mg/mL}$ )

#### **4.8.1.11. Czystość radionuklidowa badanie B**

Spektrometrię promieniowania gamma zbadano przy użyciu analizatora wielokanałowego MUCHA firmy Elysia-Raytest. W celu wykrycia zanieczyszczeń radionuklidowych próbka została pozostawiona na okres co najmniej 24h, w celu rozpadu fluoru-18 do poziomu umożliwiającego wykrycie zanieczyszczeń. Fiolkę przeznaczoną na to badanie wprowadzono do komory detektora. Analiza trwała 30 minut. Wynik analizy został oparty o wcześniejszą kwalifikację urządzenia z użyciem wzorcowego źródła wieloizotopowego.

Wartości graniczne: całkowita radioaktywność fluoru -18 nie mniej niż 99.9%.

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

#### **4.8.1.12. Badanie jałowości**

Do badania jałowości użyto pożywek komercyjnych: bulionu trytozowo-sojowego (TSB) o objętości 100 mL, oraz bulionu tioglikolanowego z resazuryną (THIO) o objętości 100 mL. Do bulionów wprowadzono przy użyciu pipety automatycznej 1 – 1,5 mL radiofarmaceutyku. Pożywki z wprowadzonymi próbkami oraz próbkami kontrolnymi przeniesiono do ciepłarek. Butelki z TSB z próbką oraz próbą kontrolną inkubowano do 14 dni w temperaturze 20-25°C. Butelki z THIO z próbką oraz próbą kontrolną inkubowano do 14 dni w temperaturze 30-35°C. Wizualnie oceniono posiane próbki w 3, 5, 7 i 14 dobie inkubacji. Badania jałowości zostały wykonane w Zakładzie Mikrobiologii Centrum Onkologii w Bydgoszczy.

Wartości graniczne: brak zmętnienia w próbce – produkt jałowy.

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

#### **4.8.2. [<sup>18</sup>F]F-DOPA**

##### **4.8.2.1. Wygląd (patrz pkt 4.8.1.1.)**

Wartości graniczne: przezroczysty, bezbarwny roztwór bez widocznych gołym okiem cząstek stałych.

##### **4.8.2.2. Okres półtrwania (patrz pkt 4.8.1.2.)**

Wartości graniczne: wartość pomiaru powinna mieścić się w zakresie od 105 do 115 min.

##### **4.8.2.3. Czystość radiochemiczna i chemiczna – metoda HPLC**

Czystość radiochemiczną i chemiczną zbadano przy pomocy chromatografu cieczowego HPLC 1200 firmy Agilent połączonego szeregowo z detektorem DAD i detektorem radiometrycznym (kryształ scyntylicyjny NaI 3x3 cala) firmy Raytest. Do analizy użyto kolumny analitycznej Synergi 4 $\mu$  Hydro-RP, 250x4.5 mm; Phenomenex. Kolumna znajdowała się w termostatowanym piecu, w którym utrzymano stałą temperaturę 25°C. Fazą ruchomą był wodny roztwór kwasu octowego (0,1%): metanol 97:3 (v/v), odgazowywany helem zarówno podczas kondycjonowania kolumny jak i analizy. Objętość nastrzyku wynosiła 10  $\mu$ L. Po zakończeniu analizy otrzymane z obu detektorów chromatogramy zostały zintegrowane przy użyciu oprogramowania LabSolution. Na chromatogramie otrzymanym z detektora radiometrycznego oceniono czystość radiochemiczną, w postaci procentowej zawartości

fluoru-18 w postaci of 6-[<sup>18</sup>F]F-DOPA. Na chromatogramie otrzymanym z detektora elektrochemicznego oceniono czystość chemiczną zawartość 6-fluorolewodopa oraz innych zanieczyszczeń.

Wartości graniczne czystości radiochemicznej badanej metodą HPLC:

- a. fluor-18 w postaci 6-[<sup>18</sup>F]F-DOPA nie mniej niż 95% całkowitej radioaktywności fluoru - 18.
- b. zawartość 6-fluorolewodopa w ilości 0,1 mg/V, gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 0.02$  mg/mL
- c. zawartość innych zanieczyszczeń 0,5mg/V gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 0.1$  mg/mL

#### **4.8.2.4. Czystość enancjomeryczna**

Do badania czystości enancjomerycznej użyto HPLC 1200 firmy Agilent (jak w przypadku badania czystości radiochemicznej i chemicznej) z zastosowaniem kolumny CHIRAL Daicel CROWNPAK CR(+) 5  $\mu$ , 4.0 x 150 mm, przy temperaturze 15°C, elucja izokratyczna, przepływ 0,2 mL/min, faza ruchoma: wodny roztwór 0,02 M kwas chlorowy (VII).

Wartości graniczne:

- a. L-6-[<sup>18</sup>F]F-DOPA nie mniej niż 96% całkowitej radioaktywności
- b. D-6-[<sup>18</sup>F]F-DOPA nie więcej niż 4% całkowitej radioaktywności

#### **4.8.2.5. Endotoksyny bakteryjne (patrz punkt 4.8.1.4.)**

Wartości graniczne: zawartości endotoksyn bakteryjnych w ilości  $\leq 175$  EU/V EU/mL; gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 35$  EU/mL.

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

#### **4.8.2.6. GC pozostałości rozpuszczalników (patrz punkt 4.8.1.5.)**

Wartości graniczne dla badanych rozpuszczalników badanych metodą GC:

- a. etanol w ilości  $\leq 50$  mg/mL, gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 10$  mg/mL
- b. acetonitryl w ilości  $\leq 4.1$  mg/mL, gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 0.82$  mg/mL
- c. metanol w ilości  $\leq 30$  mg/mL, gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 6$  mg/mL

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

#### **4.8.2.7. Czystość radiochemiczna – metoda TLC**

Ocena czystości radiochemicznej roztworu 6-[<sup>18</sup>F]F-DOPA została przeprowadzona w oparciu o metodę chromatografii cienkowarstwowej TLC techniką wstępującą, z użyciem pasków (10x2cm) Silica Gel. Do oceny czystości radiometrycznej użyto detektora promieniowania gamma firmy Raytest, z kryształem scyntylicyjnym NaI 3"x3". Jako fazy ruchomej użyto mieszaniny 0,4 M kwas siarkowy (VI) : 0,005M DTPA (1 mL : 10 µL). Po naniesieniu próbki 6-[<sup>18</sup>F]F-DOPA w miejscu startu na pasku TLC oraz wysuszeniu naniesionej plamki, pasek umieszczano w zamkniętej komorze szklanej do chromatografii, w której następowało rozciąganie w roztworze fazy ruchomej. Rozpuszczalnik rozwijał się od miejsca startu do czoła na odległość 8 cm. Po wyjęciu z komory, paski zostały wysuszone na powietrzu, a następnie umieszczane na przesuującym się stole detektora radiometrycznego, który rejestrował rozpad zidentyfikowanych izotopów w czasie. Na podstawie wyników analiz możliwe było określenie zawartości procentowej fluoru-18 w postaci 6-[<sup>18</sup>F]F-DOPA

Wartości graniczne czystości radiochemicznej badanej metodą TLC: fluor-18 w postaci 6-[<sup>18</sup>F]F-DOPA nie mniej niż 95% całkowitej radioaktywności fluoru -18.

#### **4.8.2.8. Wartość pH (patrz punkt 4.8.1.7.)**

Wartości graniczne: pH w zakresie 4.0 do 5.5.

#### **4.8.2.9. Zawartość TBA**

Do badania pozostałości TBA użyto HPLC 1100 firmy Agilent z detektorem UV z zastosowaniem kolumny NUCLEODURfi C18 Isis analytical column 100 × 4.6 mm 3µm, Macherey–Nagel, przepływ 0,6 mL/min, faza ruchoma: kwas toluenosulfonowy (0.95 g/L): acetonitrile 25:75 (v/v).

Wartości graniczne pozostałości TBA: zawartość TBA w ilości 2,6 mg/V, gdzie V=5 mL, czyli ≤ 0.52 mg/mL.

#### **4.8.2.10. Tożsamość radionuklidowa (patrz punkt 4.8.1.8.)**

Wartości graniczne: główne fotony gamma mają energię 0,511 MeV. W zależności od geometrii pomiaru, może być obserwowany pik sumy wynoszący 1,022 MeV.

#### **4.8.2.11. Czystość radionuklidowa badanie A (patrz punkt 4.8.1.9.)**

Wartości graniczne: piki w widmie gamma odpowiadające fotonom o energii innej niż 0,511 MeV lub 1,022MeV, stanowią nie więcej niż 0,1% całkowitej radioaktywności.

#### **4.8.2.12. Czystość radionuklidowa badanie B (patrz punkt 4.8.1.11.)**

Wartości graniczne: całkowita radioaktywność fluoru -18 nie mniej niż 99.9%.

#### **4.8.2.13. Badanie jałowości (patrz punkt 4.8.1.12.)**

Wartości graniczne: brak zmętnienia w próbce – produkt jałowy.

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

### **4.8.3. ([<sup>11</sup>C]-metyl) Cholina**

#### **4.8.3.1. Wygląd (patrz punkt 4.8.1.1.)**

Wartości graniczne: przezroczysty, bezbarwny roztwór bez widocznych gołym okiem cząstek stałych.

#### **4.8.3.2. Okres półtrwania**

Określenie przybliżonego okresu półtrwania izotopu fluoru [<sup>11</sup>C] w trybie bezpośrednim (ang. stand-alone) z użyciem komory jonizacyjnej i miernika aktywności CURIEMENTOR 4.

Podczas pomiaru przybliżonego okresu półtrwania wykonano co najmniej 3 pomiary w okresie nie krótszym niż ¼ spodziewanego okresu półtrwania – w czasie t=0.0 min., t=5 min. oraz t=10 min. Następnie skorzystano z zależności pomiędzy stałą rozpadu, a okresem półtrwania ( $\lambda = \ln 2 / T_{1/2}$ ) i obliczono czas  $T_{1/2}$ .

Wartości graniczne: wartość pomiaru powinna się mieścić w zakresie od 19 do 21,8 min

#### **4.8.3.3. Czystość radiochemiczna i chemiczna – metoda HPLC**

Czystość radiochemiczną zbadano przy pomocy chromatografu ciekowego HPLC 1200 firmy Agilent z detektorem radiometrycznym (kryształ scyntylacyjny NaI 3x3 cala) firmy Raytest. Do analizy użyto kolumny analitycznej Agilent, ZORBAX 300-SCX, 4,6 x 55 mm, 5 µm. Kolumna znajdowała się w termostатовanym piecu, w którym utrzymano stałą temperatura 25°C. Fazą ruchomą była mieszanina octan amonu 0.04M : MeCN 4:1 (v/v), odgazowywana helem zarówno podczas kondycjonowania kolumny jak i analizy. Objętość nastrzyku wynosiła 10 µL. Po zakończeniu analizy otrzymane chromatogramy zostały zintegrowane przy użyciu



oprogramowania LabSolution. Na chromatogramie otrzymanym z detektora radiometrycznego oceniono czystość radiochemiczną, w postaci procentowej zawartości węgla-11 w postaci [metylo-<sup>11</sup>C]Choliny.

Wartości graniczne czystości radiochemicznej badanej metodą HPLC: węgiel-11 w postaci [metylo-<sup>11</sup>C]Cholina nie mniej niż 95% całkowitej radioaktywności węgla-11

#### **4.8.3.4. Endotoksyny bakteryjne (patrz punkt 4.8.1.4.)**

Wartości graniczne: zawartości endotoksyn bakteryjnych w ilości  $\leq 175$  EU/V EU/mL; gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 35$  EU/mL.

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

#### **4.8.3.5. GC pozostałości rozpuszczalników (patrz punkt 4.8.1.5.)**

Wartości graniczne dla badanych rozpuszczalników badanych metodą GC:

- a. etanol w ilości  $\leq 50$  mg/mL, gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 10$  mg/mL
- b. acetonitryl w ilości  $\leq 4.1$  mg/mL, gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 0.82$  mg/mL
- c. metanol w ilości  $\leq 30$  mg/mL, gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 6$  mg/mL
- d. dimetyloaminoetanol DMAE w ilości  $\leq 1.0$  mg/mL, gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 0,2$  mg/mL

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania

#### **4.8.3.6. Wartość pH (patrz punkt 4.8.1.7)**

Wartości graniczne: pH w zakresie 4.0 do 8.5

#### **4.8.3.7. Tożsamość radionuklidowa (patrz punkt 4.8.1.8)**

Wartości graniczne: główne fotony gamma mają energię 0,511 MeV. W zależności od geometrii pomiaru, może być obserwowany pik sumy wynoszący 1,022 MeV.

#### **4.8.3.8. Czystość radionuklidowa badanie A (patrz punkt 4.8.1.9)**

Wartości graniczne: piki w widmie gamma odpowiadające fotonom o energii innej niż 0,511 MeV lub 1,022 MeV, stanowią nie więcej niż 0,1% całkowitej radioaktywności

#### **4.8.3.9. Czystość radionuklidowa badanie B (patrz punkt 4.8.1.11.)**

Wartości graniczne: całkowita radioaktywność fluoru -18 nie mniej niż 99.9%.

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania

#### **4.8.3.10. Badanie jałowości (patrz punkt 4.8.1.12.)**

Wartości graniczne: brak zmętnienia w próbce – produkt jałowy.

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

#### **4.8.4. [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodu**

##### **4.8.4.1. Wygląd (patrz punkt 4.8.1.1.)**

Wartości graniczne: przezroczysty, bezbarwny roztwór bez widocznych gołym okiem cząstek stałych.

##### **4.8.4.2. Okres półtrwania (patrz punkt 4.8.3.2.)**

Wartości graniczne: wartość pomiaru powinna się mieścić w zakresie od 19 do 21,8 min

##### **4.8.4.3. Czystość radiochemiczna i chemiczna – metoda HPLC**

Czystość radiochemiczną i chemiczną zbadano przy pomocy chromatografu cieczowego HPLC 1200 firmy Agilent połączonego szeregowo z detektorem DAD i detektorem radiometrycznym (kryształ scyntylicyjny NaI 3x3 cala) firmy Raytest. Do analizy użyto kolumny analitycznej BIO-RAD, Aminex Fast Acid, 100 x 7.8 mm Kolumna znajdowała się w termostатовanym piecu, w którym utrzymano stałą temperaturę 25°C. Fazą ruchomą był 10% MeCN, odgazowywany helem zarówno podczas kondycjonowania kolumny jak i analizy. Objętość nstrzyku wynosiła 10 µL. Po zakończeniu analizy otrzymane z obu detektorów chromatogramy były integrowane przy użyciu oprogramowania LabSolution. Na chromatogramie otrzymanym z detektora radiometrycznego oceniono czystość radiochemiczną, w postaci procentowej zawartości węgla-11 w postaci [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu. Na chromatogramie otrzymanym z detektora elektrochemicznego oceniono czystość chemiczną [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu oraz pozostałych zanieczyszczeń.

Wartości graniczne czystości radiochemicznej badanej metodą HPLC:

- a. węgiel-11 w postaci [1-<sup>11</sup>C]Octanu Sodu nie mniej niż 95% całkowitej radioaktywności węgla-11
- b. zawartość octanu nie w ilości 20 mg/V, gdzie V=5 mL, czyli ≤ 4.0 mg/mL

#### **4.8.4.4. Endotoksyny bakteryjne (patrz punkt 4.8.1.4.)**

Wartości graniczne: zawartości endotoksyn bakteryjnych w ilości  $\leq 175$  EU/V EU/mL; gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 35$  EU/mL.

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

#### **4.8.4.5. GC pozostałości rozpuszczalników (patrz punkt 4.8.1.6.)**

Wartości graniczne dla badanych rozpuszczalników badanych metodą GC:

- a. etanol w ilości  $\leq 50$  mg/mL, gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 10$  mg/mL
- b. acetonitryl w ilości  $\leq 4.1$  mg/mL, gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 0.82$  mg/mL
- c. metanol w ilości  $\leq 30$  mg/mL, gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 6$  mg/mL
- d. eter w ilości  $\leq 50$  mg/mL, gdzie V=5 mL, czyli  $\leq 10$  mg/mL

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

#### **4.8.4.6. pH (patrz punkt 4.8.1.7.)**

Wartości graniczne: pH w zakresie 4.0 do 8.5.

#### **4.8.4.7. Tożsamość radionuklidowa (patrz punkt 4.8.1.8)**

Wartości graniczne: główne fotony gamma mają energię 0,511 MeV. W zależności od geometrii pomiaru, może być obserwowany pik sumy wynoszący 1,022 MeV.

#### **4.8.4.8. Czystość radionuklidowa badanie A (patrz punkt 4.8.1.9)**

Wartości graniczne: piki w widmie gamma odpowiadające fotonom o energii innej niż 0,511 MeV lub 1,022 MeV stanowią nie więcej niż 0,1% całkowitej radioaktywności.

#### **4.8.4.9. Czystość radionuklidowa badanie B (patrz punkt 4.8.1.11.)**

Wartości graniczne: całkowita radioaktywność fluoru -18 nie mniej niż 99.9%.

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

#### **4.8.4.10. Badanie jałowości (patrz punkt 4.8.1.12.)**

Wartości graniczne: brak zmętnienia w próbce – produkt jałowy.

Preparat może zostać zwolniony do zastosowania przed zakończeniem badania.

## 5. Wyniki i dyskusja

### 5.1. Automatyczna radiosynteza [<sup>18</sup>F]FDG na module Explora FDG4

Poszczególne etapy syntezy i oczyszczania [<sup>18</sup>F]FDG miały na celu produkcję radiofarmaceutyku o najwyższym stopniu czystości, spełniającym wszystkie wymagania jakościowe wynikające z zaleceń Farmakopei Polskiej (FP XII) [83] i Farmakopei Europejskiej (Ph.Eur.X) [84]. Na ilość zanieczyszczeń radiochemicznych, chemicznych i prawidłowy wynik wskaźnika pH wyprodukowanego radiofarmaceutyku, miała wpływ metoda syntezy i oczyszczania, z właściwie zaprogramowaną automatyczną procedurą, mającą znaczenie przy ilości dodawanych odczynników, temperaturze i czasie trwania poszczególnych etapów.

Z przeprowadzonych badań wynika, że czas hydrolizy wynoszący 8 min jest to minimalny czas na jaki należy poddać zabezpieczone pochodne acetylo-[<sup>18</sup>F]FDG działaniu kwasu solnego, aby odłączyć grupy zabezpieczające (acetylowe) w ilości pozwalającej przekroczyć próg akceptacji dla czystości radiochemicznej przy zachowaniu czystości chemicznej i wskaźnika pH.

Analiza statystyczna wykazała, że wszystkie wyniki uzyskane przy czasie hydrolizy wynoszącej 8 minut mieszczą się w wartościach granicznych dla wszystkich metod pomiarowych. Jednak w przypadku pomiaru wykonywanego przy pomocy TLC część wyników jest na granicy akceptacja/odrzućenie. Powyższe wyniki sugerują, że zwolnienie produktu dla pacjenta przy uzyskanym wyniku granicznym jest dopuszczalne, ponieważ mieści się w kryteriach akceptacji, jednak w sytuacji badania stabilności produktu, polegającym na udowodnieniu, że w całym swoim okresie trwałości lek (12 godzin) pozostaje skuteczny i bezpieczny dla pacjenta, wynik na granicy akceptacja/odrzućenie może mieć wpływ na pomyślny przebieg tego badania.

W doświadczeniu udowodniono, że zmiana pojedynczego parametru syntezy ma istotny wpływ na wyniki kontroli jakości. Ocenianym parametrem był czas hydrolizy, którego wydłużenie znacząco wpływało na polepszenie czystości radiochemicznej, mierzonej metodą TLC, końcowego produktu [<sup>18</sup>F]FDG (tabela 6), (rycina 22).

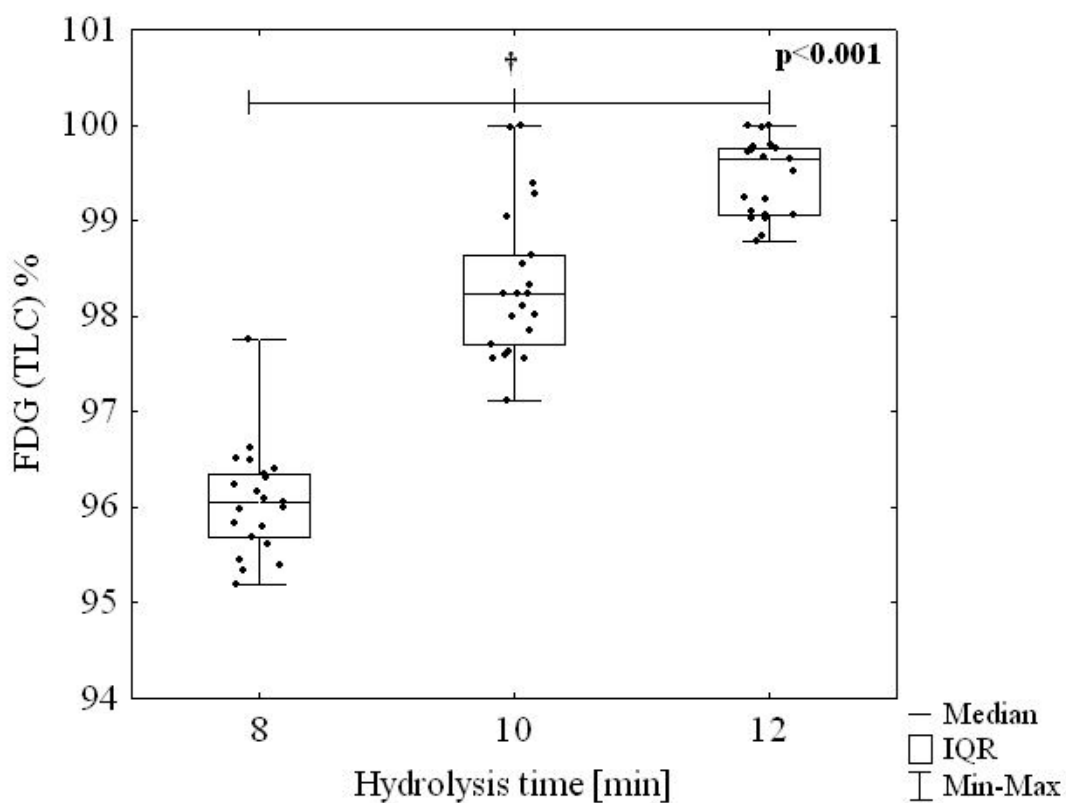
**Tabela 6.** Wpływ czasu hydrolizy na czystość chemiczną, radiochemiczną i pH [<sup>18</sup>F]FDG.

Test Kontroli Jakości (QC)	Kryteria akceptacji	Czas hydrolizy [min]			p
		8 (n=21)	10 (n=21)	12 (n=21)	
		Mediana	Mediana	Mediana	
		IQR	IQR	IQR	
		Min-Max	Min-Max	Min-Max	
[ <sup>18</sup> F]FDG (TLC) [%]	≥ 95	96.05† 95.69; 96.34 (95.19- 97.75)	98.23† 97.71; 98.63 (97.11- 100.00)	99.65† 99.06; 99.75 (98.79; 100.00)	<0.001
Acetylo-[ <sup>18</sup> F]FDG (TLC) [%]	≤ 5	3.81† 3.51; 4.19 (2.34-4.78)	1.80† 1.26; 2.01 (0.00-2.74)	0.35† 0.22; 0.75 (0.00-1.12)	<0.001
[ <sup>18</sup> F]FDG (HPLC) [%]	≥ 95	99.681 99.539; 99.755 (99.120- 100.00)	99.616 99.529; 99.704 (99.263- 99.822)	99.678 99.601; 99.784 (99.293- 99.874)	0.374
Zanieczyszczenie CIDG (HPLC) [mg/mL]	≤ 0,1	0.001 0.001; 0.002 (0.001- 0.002)	0.001 0.001; 0.001 (0.001- 0.002)	0.001 0.001; 0.001 (0.000-0.005)	0.896
[ <sup>18</sup> F]FDG pH roztworu	4.5-8.5	6.85†,‡ 6.68; 7.11 (6.40-7.96)	5.95† 5.75; 6.02 (5.50-7.00)	6.12‡ 6.03; 6.21 (5.92-6.65)	<0.001

n: ilość próbek, Me: mediana, IQR: kwartyle,

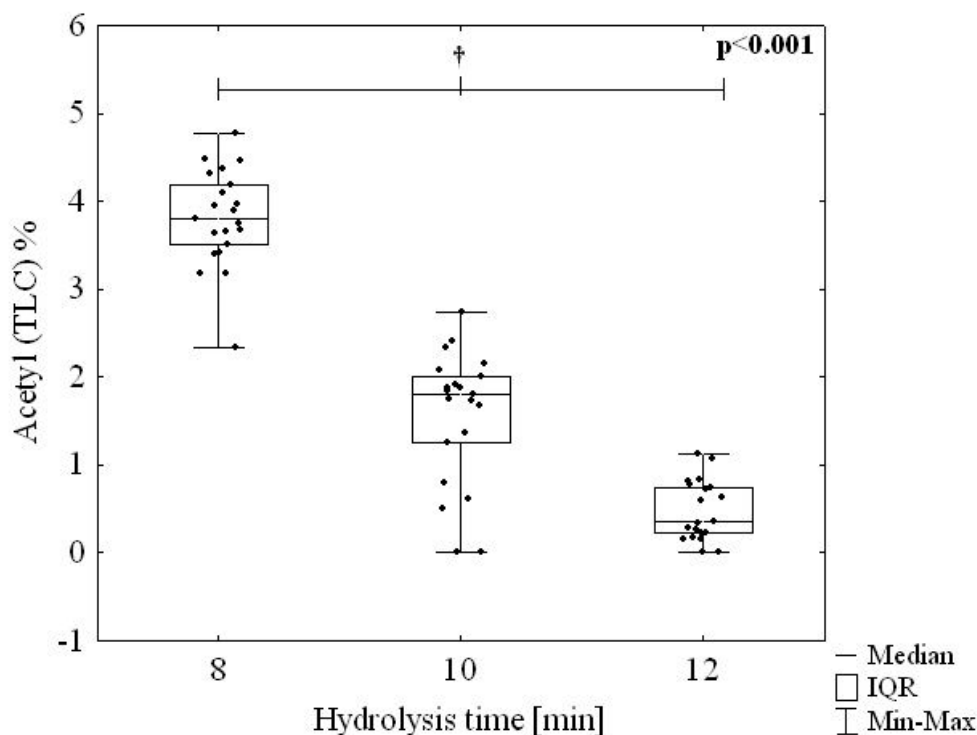
p: wartość p (uzyskana testem Kruskala-Wallis)

† ‡ wynik wielokrotnych porównań średnich rang - p<0.05



**Rycina 22.** Wpływ czasu hydrolizy na czystość radiochemiczną [ $^{18}\text{F}$ ]FDG: mierzona ilość [ $^{18}\text{F}$ ]FDG przy użyciu metody TLC.

Wydłużenie czasu hydrolizy z 8 do 10 minut, a następnie do 12 minut przyczyniło się do zmniejszenia ilości częściowo lub całkowicie acetylowanych pochodnych w produkcie końcowym (tabela 1), (rycina 23).



**Rycina 23.** Wpływ czasu hydrolizy na czystość radiochemiczną [ $^{18}\text{F}$ ]FDG: mierzona ilość acetylo- $^{18}\text{F}$ ]FDG przy użyciu metody TLC.

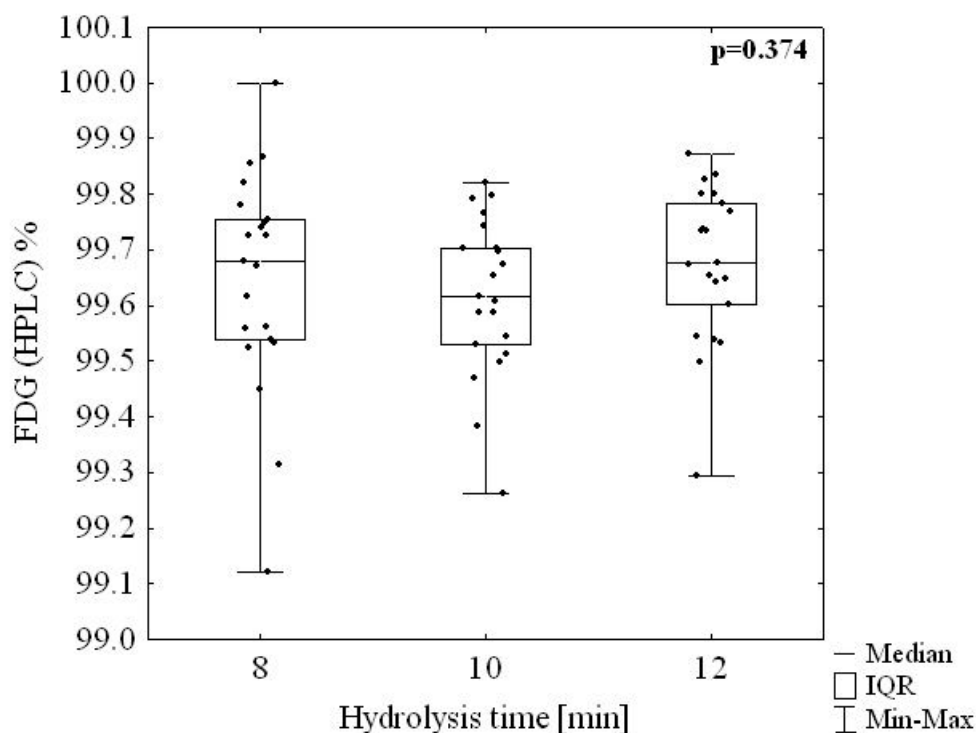
Wydłużenie czasu hydrolizy do 14, 16, 18 i 20 minut nie miało znaczącego wpływu na wyniki kontroli jakości w porównaniu z czasem 12 minut, jednak miało wyraźny wpływ na utratę aktywności wynikającą z połowicznego rozpadu izotopu fluoru [ $^{18}\text{F}$ ] (tabela 7).

**Tabela 7.** Wpływa czasu hydrolizy na wyniki kontroli jakości i procentowy spadek aktywności.

Czas [min]	[ $^{18}\text{F}$ ]FDG (TLC) [%]	Acetyl- $^{18}\text{F}$ ]FDG (TLC) [%]	[ $^{18}\text{F}$ ]FDG (HPLC) [%]	CIDG (HPLC) [%]	pH	Procentowy spadek aktywności [%]
8	95,69	4,19	99,45	0,001	6,79	0
10	97,84	2,01	99,62	0,002	6,05	1,67
12	99,22	0,63	99,77	0,001	6,12	2,5
14	99,02	0,75	99,49	0,001	6,13	4,17
16	99,24	0,72	99,54	0,001	6,1	5,1
18	99,52	0,6	99,80	0,001	6,05	6,67

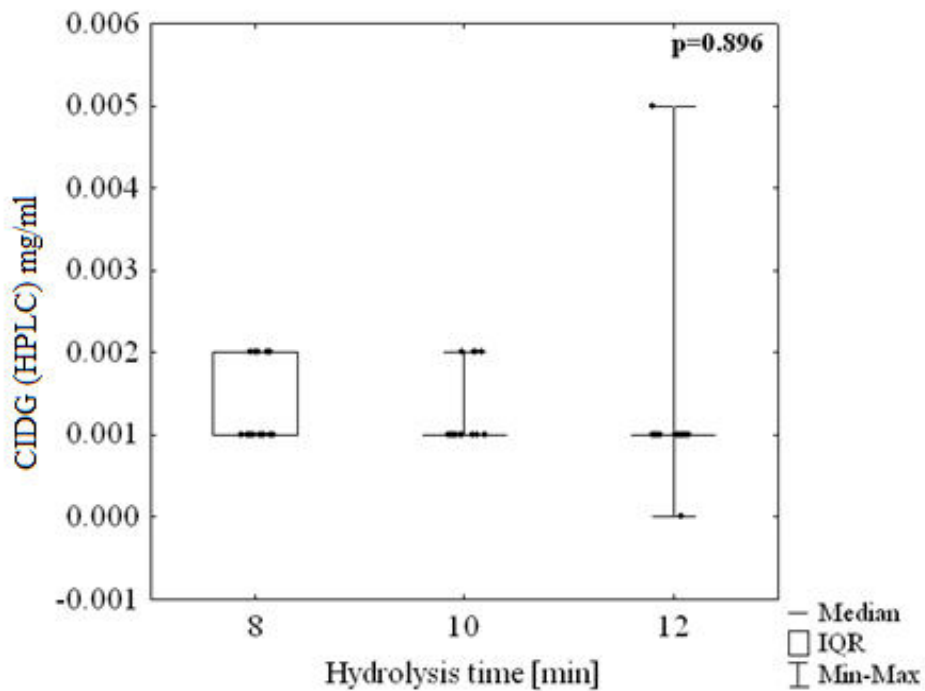
20	99,79	0,16	99,67	0,001	6,15	8,34
----	-------	------	-------	-------	------	------

Wydłużenie czasu hydrolizy nie miało wpływu na czystość radiochemiczną mierzoną przy użyciu HPLC (tabela 1), (rycina 24). Również nie spowodowało to wzrostu zawartości 2-chloro-2-deoksy-D-glukozy (czystość chemiczna), powstającej w wyniku zastąpienia anionu  $^{18}\text{F}$ -anionem  $\text{Cl}^-$  podczas działania kwasu solnego na triflat mannozy (tabela 6), (rycina 25).



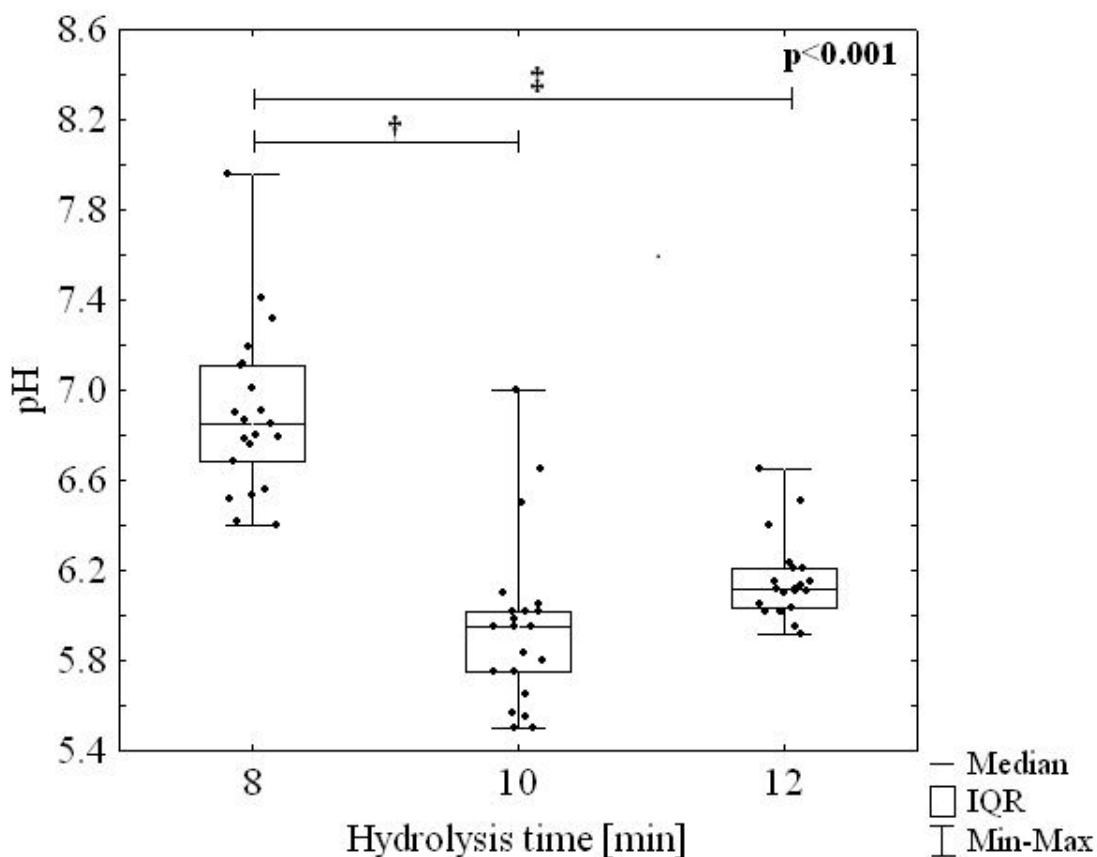
**Rysunek 24.** Wpływ czasu hydrolizy na czystość radiochemiczną  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ : mierzona ilość  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  przy użyciu metody HPLC.





**Rysunek 25.** Wpływ czasu hydrolizy na czystość radiochemiczną [ $^{18}\text{F}$ ]FDG: mierzona ilość CIDG przy użyciu metody HPLC.

Wydłużony czas hydrolizy miał wpływ na obniżenie wartości pH, które spowodowane było wzrostem ilości kwasu octowego powstającego po odłączeniu grupy acetylowych od 1,3,4,6-tetra-O-acetylo-2- $^{18}\text{F}$ fluoro- $\beta$ -D-galaktopiranozy (tabela 6), (rycina 26). W badaniu zauważono zależność pomiędzy spadkiem ilości acetylowanych pochodnych, a obniżeniem wartości wskaźnika pH. Wartość wskaźnika pH choć niemiarodajna, może dawać pierwszą informacją o tym, czy ilość zanieczyszczeń w postaci acetylo- $^{18}\text{F}$ FDG jest na wysokim lub niskim poziomie.



**Rycina 26.** Wpływ czasu hydrolizy na pH [ $^{18}\text{F}$ ]FDG.

Poprawa czystości radiochemicznej, przy zachowaniu wysokiej czystości chemicznej i wskaźnika pH, przy zwiększeniu czasu hydrolizy o 4 minuty od wartości wyjściowej wynoszącej 8 minut była bardzo znacząca. Odnotowana strata aktywności wynikająca z połowicznego rozpadu izotopu fluoru [ $^{18}\text{F}$ ] była niewielka. Przy założeniu, że średnia aktywność otrzymywana z cyklotronu i przesyłana do modułu syntezy wynosiła 120 GBq, to spadek aktywności po 4 minutach wynosi 3 GBq czyli 2,5% (tabela 7).

Dawka potrzebna do badania wg procedur wzorcowych dla medycyny nuklearnej wynosi 5 - 7 MBq/kg. Oznacza to, że dla pacjenta ważącego 70 kg dawka podawanego radiofarmaceutyku powinna mieć aktywność w przedziale 350 - 490 MBq, a przy założeniu, że wynik kontroli jakości dla acetylowych pochodnych był na granicy akceptacji/odrzućenia pacjent mógłby otrzymać około 17,5-24,5 MBq zanieczyszczeń. Dawka o wartości diagnostycznej zostałaby pomniejszona o aktywność zanieczyszczeń. Acetylowe zanieczyszczenia są hydrolizowane i metabolizowane w komórkach nowotworowych do 2-fluoro- $^{18}\text{F}$ -2-deoksy-D-glukozy, a następnie do 2-fluoro- $^{18}\text{F}$ -2-deoksy-D-glukozo-6-

fosforanu. Oznacza to, że nie mają one negatywnego wpływu na zdrowie pacjenta, jednak mogą mieć wpływ na wynik pozytywnie dodatni badania diagnostycznego. Mechanizm transportu acetylowych pochodnych do komórki jest GLUT niezależny. Związki te charakteryzują się dużą lipofilnością i przenikają błonę komórkową na zasadzie dyfuzji. Charakter tego transportu nie jest do końca poznany [86].

W wyniku prowadzonych prac wykonano syntezę [<sup>18</sup>F]FDG przy użyciu prekursora triflattu mannozy z zastosowaniem hydrolizy kwasowej w czasie 45 minut przy wydajności radiochemicznej RCY = 60-70% i czystości radiochemicznej RCP > 99%.

## 5.2. Automatyczna radiosynteza [<sup>18</sup>F]F-DOPA na module Raytest

### SynChrom R&D

Pierwszym etapem syntezy było odzyskanie izotopu fluoru ze złoża kolumny anionowymiennej QMA. Wcześniejsze prace dotyczące nukleofilowej syntezy [<sup>18</sup>F]F-DOPA donoszą, że zarówno rodzaj jak i ilość katalizatora przejścia fazowego (PTC) mają wpływ na powstawanie produktów ubocznych, co obniża wydajności reakcji [84,85]. Sugerując się tymi wynikami jako PTC do syntezy wybrano TBAHCO<sub>3</sub><sup>-</sup> i wykonano serię elucji izotopu fluoru <sup>18</sup>F z kolumny QMA używając różnych ilości TBAHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Sprawdzano pozostałości fluoru <sup>18</sup>F na kolumnie QMA po 12 h od elucji. Następnie wyliczano rzeczywistą ilość pozostałości <sup>18</sup>F korzystając ze wzoru na czas połowicznego rozpadu:

$$t = T_{\frac{1}{2}} \frac{\ln 2}{\lambda}$$

Po elucji przeprowadzono destylację azeotropową w temperaturze 80°C, przy strumieniu gazu obojętnego 800 mbar. Opary rozpuszczalników zebrano do pułapki próżniowej zanurzonej w ciekłym azocie. Destylacja powtórzona została dwukrotnie w celu całkowitego odparowania wody, obniżającej reaktywność fluoru. Objętość acetonitrylu dodawana przy drugiej destylacji azeotropowej była zawsze wyższa o 50 µL niż suma objętości TBAHCO<sub>3</sub><sup>-</sup> i MeCN, która znalazła się w reaktorze po odzyskaniu izotopu fluoru. Dodanie większej ilości rozpuszczalnika w drugiej destylacji umożliwiło zabranie ze ścianek reaktora kompleksu TBAF[<sup>18</sup>F], pozostałego po pierwszej destylacji azeotropowej.

Ilość dodanego TBAHCO<sub>3</sub><sup>-</sup> i MeCN podczas elucji z kolumny miała wpływ na aktywność zbieranego fluoru <sup>18</sup>F do naczynia reakcyjnego. Zauważono, że pozostałości izotopu <sup>18</sup>F, przy ilości 100 µL – 200 µL TBAHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, były porównywalne. Dodanie TBAHCO<sub>3</sub><sup>-</sup> w ilości 50 µL powodowało, że pozostałości fluoru <sup>18</sup>F wynosiły średnio 10700 MBq. Oprócz ilości odzyskanego fluoru <sup>18</sup>F wzięto pod uwagę wpływ czasu pierwszej i drugiej destylacji azeotropowej na spadek aktywności spowodowany czasem suszenia. Stwierdzono, że im większa ilość dodanych odczynników, tym dłuższy czas odparowywania. Biorąc pod uwagę wyżej wymienione czynniki obliczono całkowity spadek aktywności, wynikający z sumy pozostałości fluoru <sup>18</sup>F na kolumnie oraz spadku aktywności spowodowanego czasem destylacji azeotropowej, w stosunku do aktywności wyjściowej 120 GBq. Ilość TBAHCO<sub>3</sub><sup>-</sup> i MeCN, najkorzystniejsza z punktu procentowego spadku aktywności, na który składa się

pozostałość izotopu na kolumnie jonowymiennej oraz długość suszeń azeotropowych wyniosła 100  $\mu\text{L}$  (tabela 8).

**Tabela 8.** Wpływ ilości PTC oraz czasu destylacji azeotropowej na aktywność odzyskanego izotopu fluoru  $^{18}\text{F}$ .

Ilość $\text{TBAHCO}_3^-$ ( $\mu\text{L}$ )	Ilość MeCN ( $\mu\text{L}$ )	Aktywność pozostała na kolumnie po 12 h od zakończenia syntezy (MBq)	Wyliczona pozostała aktywność (MBq)	Całkowity czas suszenia po dwóch destylacjach azeotropowych (min)	Procentowy spadek aktywności (%)
50	50	1.20	10700	8	13.4
100	100	0.45	4000	12	10.4
150	150	0.37	3300	16	12.1
200	200	0.25	2300	21	14.1

Warunki prowadzenia syntezy: EOB=120 GBq, 80°C, n = 3

Kolejnym etapem było dodanie prekursora rozpuszczonego w DMF do pierwszego reaktora. Porównywano dwie komercyjnie dostępne ilości prekursora 1336 firmy ABX: 10 mg i 30 mg. Wyniki zestawiono poniżej (tabela 9).

**Tabela 9.** Wpływ ilości prekursora na wydajność znakowania.

Ilość prekursora (mg)	Ilość rozpuszczalnika ( $\mu\text{L}$ )	Czas znakowania (min)	Wydajność RCY (%)
10	500	10	70
30	1000	10	10

Warunki prowadzenia syntezy:  $\text{TBAHCO}_3^-$ , DMF, 110°C, n = 3

W pierwszej kolejności radioznakowanie zostało przeprowadzone przy użyciu 10 mg prekursora w 500  $\mu\text{L}$  DMF, dodając go do wysuszonego kompleksu  $\text{TBAF}[^{18}\text{F}]$ . Znakowanie przebiegało w 110°C przez 10 min. Wydajność radioznakowania podczas pierwszych syntez wyniosła RCY = 40 - 50%. Jednak przy kolejnych syntezach zauważono wahania wydajności

znakowania, które obniżyły się nawet do  $RCY = 10\%$ . Zaobserwowano, że przy wysokich wydajnościach kolor mieszaniny reakcyjnej był czerwony, a w przypadku niskich wydajności był koloru czarnego.

W celu ustalenia przyczyny wahań znakowania rozebrano reaktor. Okazało się, że w naczyniu, do którego dodawano rozpuszczony prekursor oraz pod uszczelką reaktora, gromadził się płyn pozostały po procedurze czyszczenia. Dodatkowo procedura czyszczenia nie zawsze oczyściła reaktor, igłę reaktorową i mieszadło magnetyczne z pozostałości związków po radioznakowaniu (rycina 27,28).



**Rycina 27.** Nieoczyszczony reaktor po procedurze automatycznego czyszczenia (zdjęcie własne).



**Rycina 28.** Nieoczyszczone mieszadło magnetyczne po procedurze automatycznego czyszczenia (zdjęcie własne).

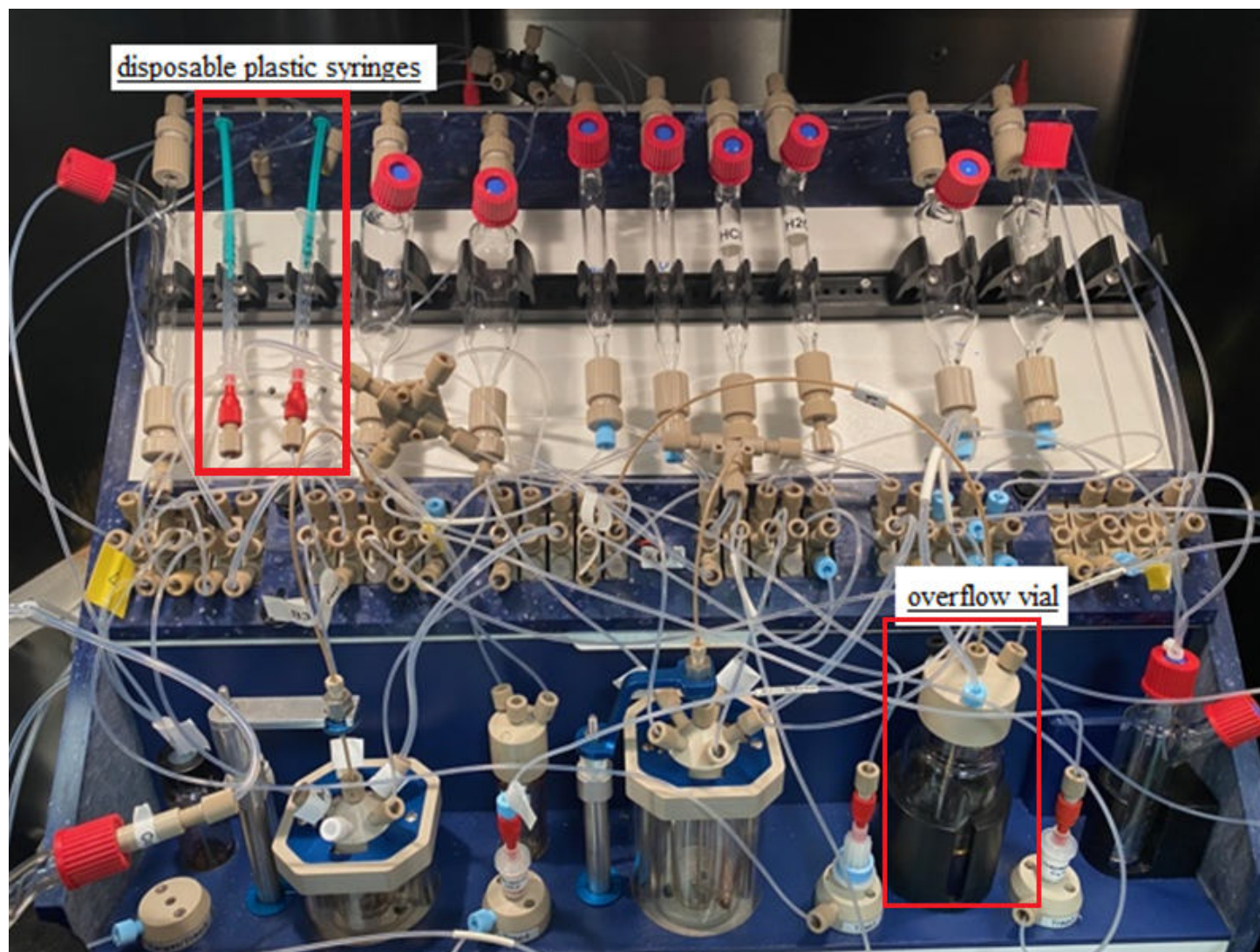
W pierwszej kolejności rozbudowano procedurę czyszczenia i suszenia modułu syntezy, jednak bardziej praktycznym rozwiązaniem okazało się zastąpienie naczynia na prekursor i MeCN jednorazową strzykawką oraz dodanie ręcznego czyszczenia reaktora, mieszadła magnetycznego oraz igły i gumy reaktorowej (rycina 29). W takich warunkach przeprowadzono znakowanie, które było stabilne i powtarzalne z wydajnością RCY = 68% (tabela 10).

**Tabela 10.** Wpływ użycia strzykawki jednorazowej na wydajność znakowania.

	<b>Fiolka</b>	<b>Strzykawka</b>
<b>Wydajność znakowania RCY (%)</b>	50	65
	20	70
	10	67
	40	72
	15	65
Warunki prowadzenia syntezy: TBAHCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , DMF, 10 mg prekursora, 110°C, n = 5		







Rycina 29. Modyfikacje modułu syntezy Raytest SynChrom R&D (zdjęcie własne)



Po nukleofilowej reakcji wymiany izotopowej konieczne było usunięcie polarnego rozpuszczalnika i nieprzereagowanych reagentów. W tym celu dodano różne ilości i proporcje rozpuszczalników do reaktora i wprowadzono mieszaninę reaktorową na kolumnę oczyszczającą SPE C18ec.

Podczas pierwszych prób oczyszczania użyto 4 mL H<sub>2</sub>O, jednak spowodowało to wytrącenie się związków organicznych prowadzące do niedrożności kapilar transferowych i samej kolumny oczyszczającej. Ilość 4 mL wynikała z pojemności pierwszego reaktora. Wprowadzono modyfikacje i dodano fiolkę przelewową-overflow vial z 16 mL wody, aby móc rozcieńczyć mieszaninę reaktorową w większej ilości rozpuszczalnika (rycina 29). Jednak i w tym przypadku kapilary transferowe zostały zablokowane.

W kolejnych próbach oczyszczania użyto mieszaniny dwóch rozpuszczalników woda/MeCN w ilości 4:1, pierw w 4 mL z pierwszego reaktora, a następnie przy dodatkowych 16 mL z fiolki przelewowej jak wyżej. W tym przypadku linie transferowe nie zostały zablokowane.

Następnie radioznakowanie zostało przeprowadzone przy użyciu 30 mg prekursora w jednorazowej strzykawce, przy zastosowaniu fiolki przelewowej oraz mieszaniny rozpuszczalników woda/MeCN w ilości 4:1. Podczas wprowadzania mieszaniny reakcyjnej po znakowaniu na kolumnę oczyszczającą SPE C18ec zauważono zmniejszenie szybkości przepływu mieszaniny reaktorowej na kolumnę. Zaobserwowano tworzenie się osadu. Osad prawdopodobnie składał się z nieprzereagowanego prekursora nierozpuszczalnego w zastosowanej mieszaninie rozpuszczalników. Dorowadziło to do niskiej wydajności radiochemicznej wynoszącej około RCY = 10 % (tabela 9).

Porównując otrzymane wyniki z wcześniejszymi pracami dotyczącymi syntezy [<sup>18</sup>F]F-DOPA, udowodniono zarówno w pracy Wagner jak i Pretze, że zastosowanie mniejszej ilości prekursora wpływa korzystniej na wydajność syntezy [87,89]. Użycie niższych ilości prekursora wpływa korzystniej na izolacje produktu pośredniego, obniżenie powstawania produktów ubocznych, aktywność specyficzną produktu końcowego oraz podstawienie <sup>18</sup>F używając kombinacji K<sub>222</sub> w DMF zamiast TBAOH w DMSO [87,89].

W obu artykułach uznano, że ilości nie przekraczające 10 mg prekursora, mają najlepszy wpływ na przebieg syntezy: Wagner - 5.7 mg (prekursor ABX 1335), Pretze – 7 mg (prekursor ABX 1336). Należy jednak wspomnieć, że po dłuższym przechowywaniu prekursora następuje jego rozkład, który wpływa na obniżenie wydajności podstawiania.

W tym przypadku użycie większych ilości prekursora pozostawia ten etap na odpowiednim poziomie wydajności [89].

W czasie prowadzenia doświadczeń z utleniaczem, zaobserwowano zależność pomiędzy odpowiednio dobranymi warunkami etapu utleniania, a wielkością poszczególnych pików na chromatogramie, po nastrzyknięciu surowego produktu na kolumnę półpreparatywną. W przypadku za małej ilości zastosowanego utleniacza (5mg, 6mg), w warunkach 20 min w 60°C zauważono pojawienie się pików związków pobocznych następującego po pikach właściwym  $[^{18}\text{F}]\text{F-DOPA}$  (rycina 30). Natomiast w przypadku zbyt dużej ilości utleniacza tj. 8mg, 9 mg, 10 mg w warunkach 20 min w 60°C, zauważono pojawienie się pików związków pobocznych przed pikami właściwym  $[^{18}\text{F}]\text{F-DOPA}$  (rycina 31). W przypadku poprawnego dobrania ilości utleniacza 7 mg w warunkach 20 min w 60°C, nie zaobserwowano pojawiania się pików pobocznych (rycina 32). Alternatywnie przeprowadzono syntezę z 7 mg mCPBA, przy użyciu ostrzejszych warunków utleniania: 75°C, czas utleniania 8 min zgodnie z patentem [90], zauważono pojawienie się pików pobocznych przed pikami głównymi (rycina 33). Wysokość pików pobocznych przewyższyła wysokość pików głównych. Dodatkowo pik główny był rozciągnięty w porównaniu do pików przy niskiej, wysokiej i prawidłowej ilości użytego utleniacza.

Jak można zaobserwować syntezę  $[^{18}\text{F}]\text{F-DOPA}$  okazała się bardzo wrażliwa na ilość utleniacza oraz na warunki prowadzenia tego etapu. Aby osiągnąć dobre wyniki stężenie mCPBA musi być precyzyjnie dostosowane do warunków reakcji. W tej pracy użyto 7 mg mCPBA, a utlenianie prowadzono przez 20 min w 60°C. Zbadany proces utleniania porównano do innych prac na temat syntezy  $[^{18}\text{F}]\text{F-DOPA}$ . We wszystkich przypadkach wybrano łagodne warunki prowadzenia procesu utleniania. Dodatkowo można zauważyć, że w pracach, gdzie podana jest ilość prekursora i mCPBA, ilość utleniacza jest o około 30% mniejsza w stosunku do ilości użytego prekursora (tabela 11).

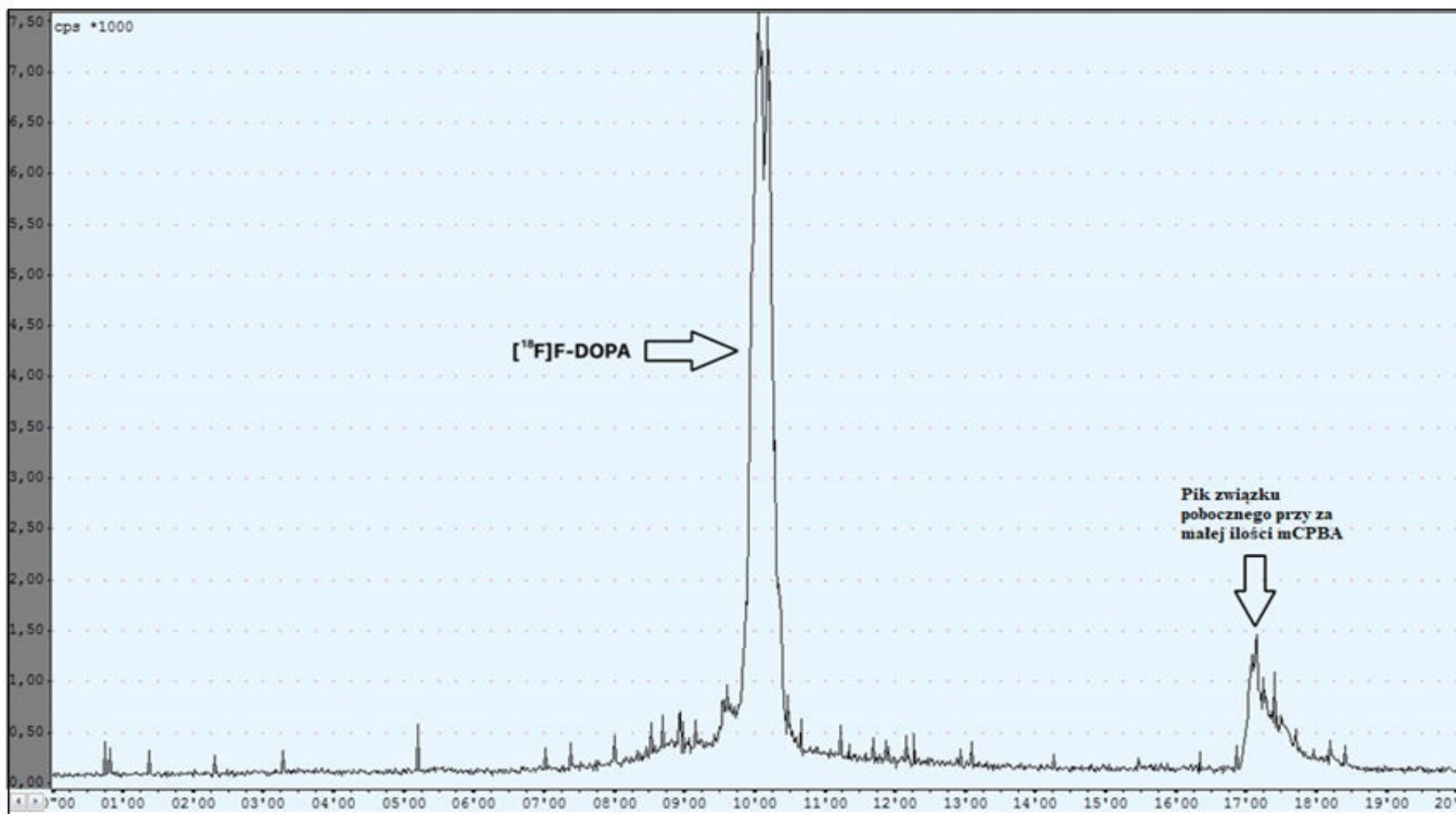
W czasie wykonywania doświadczeń zaobserwowano zmniejszającą się siłę oksydacyjną mCPBA, przejawiającą się pojawieniem się pików związków pobocznych następującego po pikach właściwym  $[^{18}\text{F}]\text{F-DOPA}$ , jak w przypadku użycia zbyt małej ilości prekursora. Oznacza to, że ilość utleniacza stosowana w syntezie musi być rutynowo dostosowywana, jeśli korzystamy z opakowania z dużą zawartością mCPBA. W przypadku chęci zastosowania wyżej wymienionego znacznika w rutynowej produkcji GMP, należałoby zakupić zestawy do syntezy

[<sup>18</sup>F]F-DOPA, w których ilości reagentów są precyzyjnie dobrane, opakowania są jednorazowe oraz posiadają certyfikaty analizy oraz daty ważności.

**Tabela 11.** Porównanie warunków utleniania przy użyciu mCPBA.

<b>Metoda</b>	<b>Czas (min)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Ilość mCPBA (mg)</b>	<b>Rozpuszczalnik</b>	<b>Ilość prekursora (mg)</b>
<b>Sauvage [88]</b>	20	60	-	MeCN	-
<b>Martin [89]</b>	16	55	-	MeCN	-
<b>Pretze [85]</b>	20	65	5	CH <sub>3</sub> Cl	7
<b>Huang [90]</b>	9.5/5. 5	65/55	20	MeCN	30
<b>Ta praca</b>	20	60	7	MeCN	10

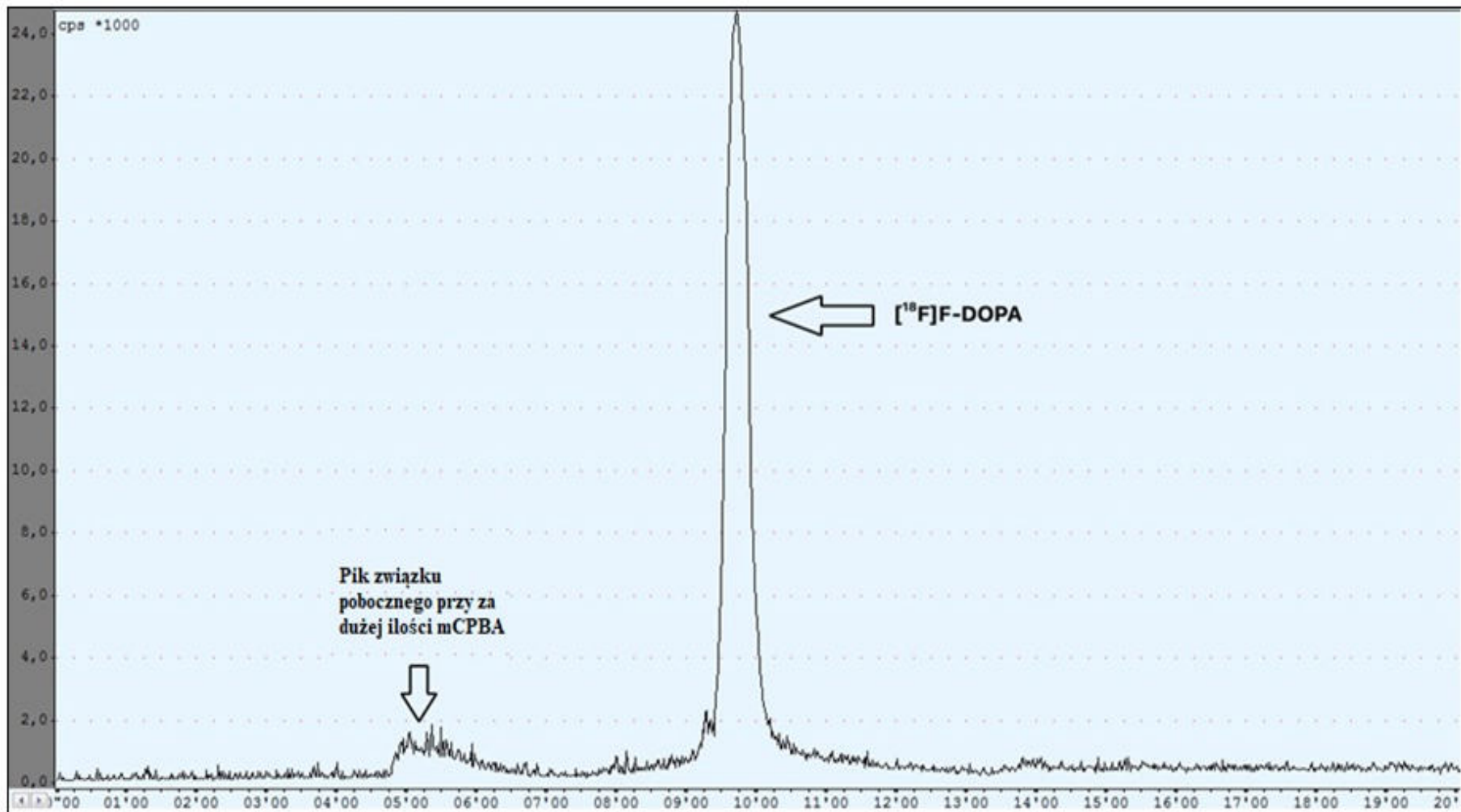




Rycina 30. Pik związku pobocznego przy zastosowaniu za małej ilości mCPBA.

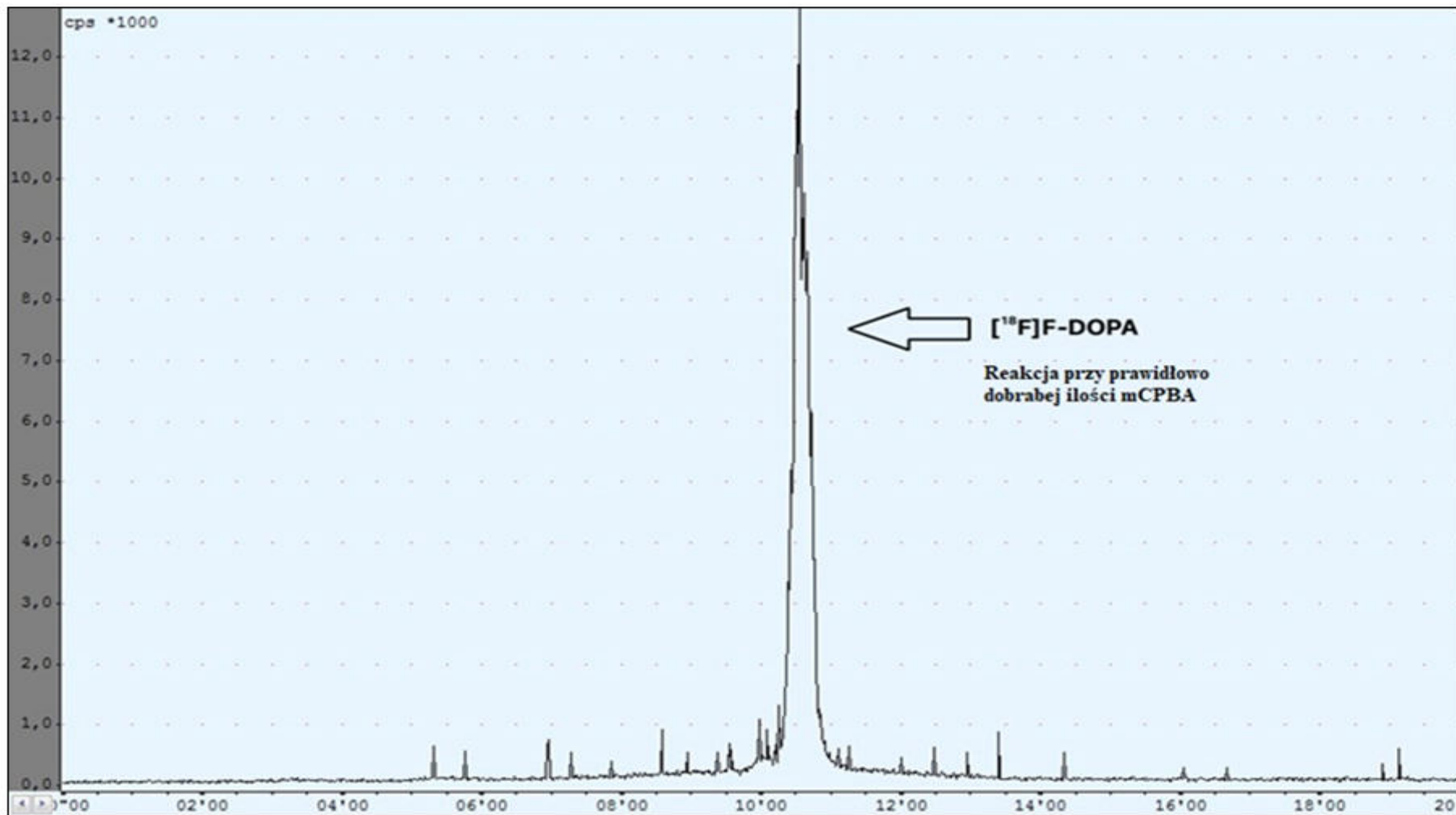






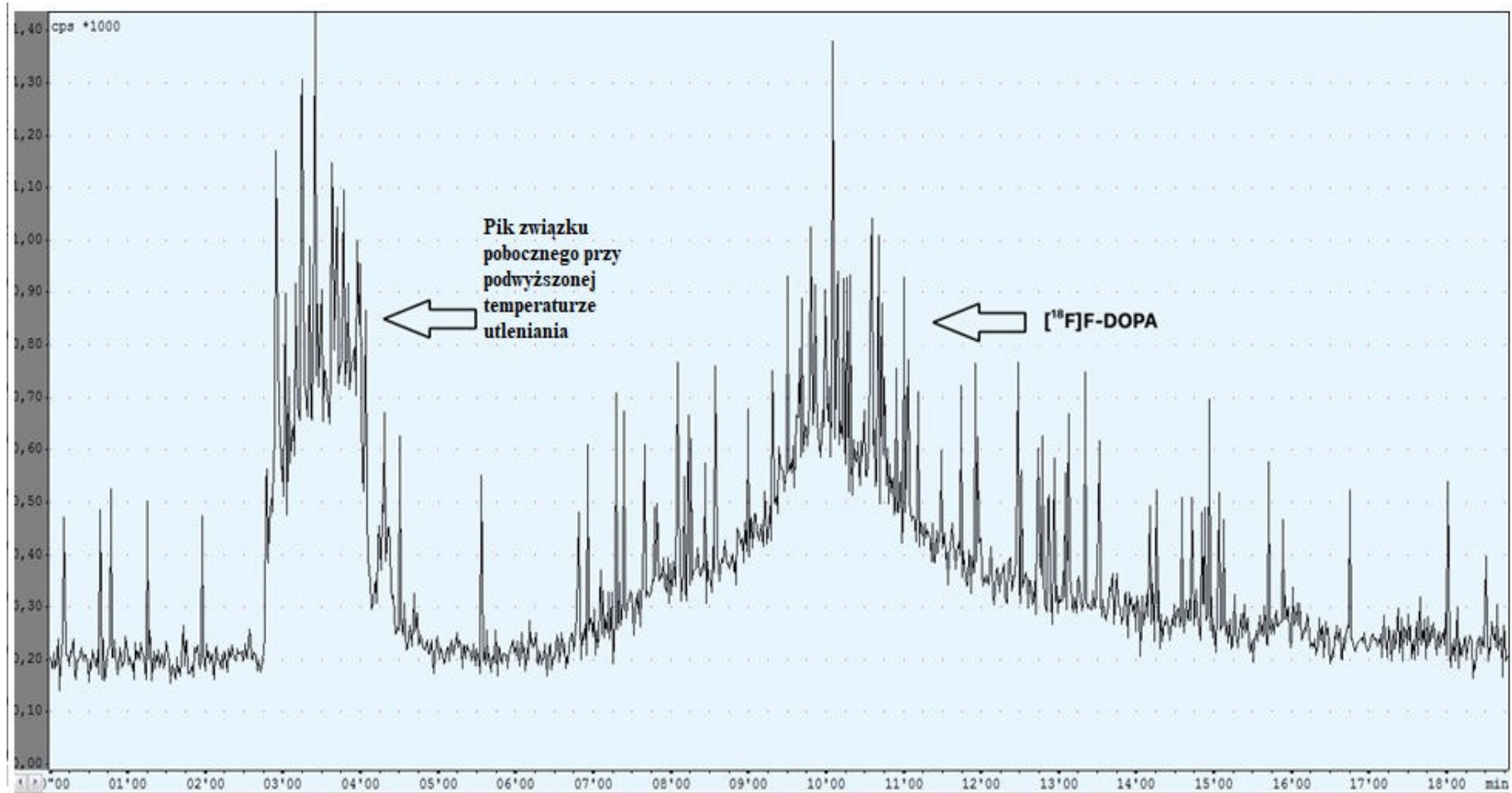
Rycina 31. Pik związku pobocznego przy zastosowaniu za dużej ilości mCPBA.





Rycina 32. Prawidłowo dobrana ilość mCPBA.





Rycina 33. Etap utleniania prowadzony w podwyższonej temperaturze.



Kolejnym etapem radiosyntezy [<sup>18</sup>F]F-DOPA, była hydroliza usuwająca grupy zabezpieczające. W tym przypadku brak grupy imidazolowej, użytej we wcześniejszych syntezach z użyciem prekursora (ABX 1335) kwas 1-imidazolidynokarboksylowy, 2-(1,1-dimetyloetylo)-5-[[2-fluoro-5-formylo-4-(fenylometoksy)fenylo]metylo]-3-metylo-4-okso-, 1,1- ester dimetyloetylowy, pozwala na użycie łagodniejszych warunków hydrolizy [87]. Porównując wszystkie metody syntezy F-DOPA, można stwierdzić, że bazują one na zastosowaniu łagodniejszych warunków hydrolizy (tabela 12). Dodatkowo został dodany etanol w ilości 3% w stosunku do ilości HCl.

**Tabela 12.** Porównanie warunków hydrolizy przy użyciu 30% HCl.

<b>Metoda</b>	<b>Czas (min)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
<b>Sauvage [91]</b>	-	40
<b>Martin [92]</b>	20	50
<b>Pretze [89]</b>	20	65
<b>Huang [93]</b>	20	50
<b>Ta praca</b>	20	60

Oczyszczanie surowego produktu końcowego odbyło się przy użyciu metody HPLC, przez wprowadzenie mieszaniny na kolumnę półpreparatywną Hamilton PRP 10µm 250x10mm. użytym eluentem była woda, przepływ 4 mL/min. Wychwyt oczyszczonego produktu z kolumny półpreparatywnej następował przez zmianę kierunku przepływu eluatu wydostającego się z kolumny do reaktora produktowego. Pik właściwy pojawił się około 10 minuty (rycina 32). Wydajność całej syntezy wyniosła RCY = 8 - 10%.

Alternatywnie testowano metodę z użyciem kolumn SPE. W tym przypadku przepuszczenie mieszaniny reakcyjnej następowało przez połączone kolumny C18/HRP. Wydajność całkowita wzrosła do RCY = 13 - 15%. Po raz pierwszy metodę oczyszczania przy użyciu kolumn SPE zaproponował Martin [94]. Następnie Pretze zaproponował modyfikacje tej metody używając zasady do zobojętnienia kwasu po hydrolizie [89]. W tej pracy użyto metody SPE Pretze jako metody alternatywnej dla oczyszczania na kolumnie półpreparatywnej.

Dzięki zastosowaniu metody kolumn SPE udało się wyeliminować błąd operatora polegający na zbyt późnym rozpoczęciu wychwytu piku właściwego, co mogłoby powodować obniżenie wydajności syntezy lub na zbyt wczesnym wychwycie, co mogłoby wpłynąć na czystość końcową produktu. Zastosowanie oczyszczania SPE nie dało jednak możliwości zaobserwowania i zareagowania na zmieniające się warunki utleniania.

Pomyślnie przeprowadzono nukleofilową metodę syntezy [<sup>18</sup>F]F-DOPA w czasie 120 minut z zastosowaniem prekursora (2S-3-[5-formylo-4-(metoksymetoksy)-2-nitrofenylo]-2-[(trifenylometylo)amino]propanian *tert*-butylu) (ABX 1336) na module Raytest SynChrom R&D przy wydajności RCY = 10-15%, czystości radiochemicznej RCY ≥ 97% i enancjomerycznej ≥ 96% .



### 5.3. Automatyczna radiosynteza na module

#### ( $^{11}\text{C}$ )-metyl) Choliny ModularLab - PharmTracer

Radiosynteza [ $^{11}\text{C}$ ]Choliny przebiegała w dwóch głównych etapach:

a. produkcji [ $^{11}\text{C}$ ] triflatu metylu [ $^{11}\text{C}$ ]CH<sub>3</sub>OTf w części ModularLab

b. produkcji (( $^{11}\text{C}$ )-metyl) Choliny z [ $^{11}\text{C}$ ] triflatu metylu [ $^{11}\text{C}$ ]CH<sub>3</sub>OTf w części PharmTracer.

W pierwszym etapie zaobserwowano, że po kilku radiosyntezach ziarna Ascarite do wychwytywania bromu i HBr traciły swoje właściwości, co powodowało obniżenie wydajności bromowania, a tym samym całej syntezy. W celu utrzymania warunków syntezy i wydajności tego etapu na stałym poziomie, wymieniano ziarna przed każdą radiosyntezą.

Końcowym produktem tego etapu był [ $^{11}\text{C}$ ] triflat metylu [ $^{11}\text{C}$ ]CH<sub>3</sub>OTf wytwarzany na kolumnie AgOTf w temperaturze 320°C. W porównaniu do innych metod bazujących na wytworzeniu [ $^{11}\text{C}$ ] jodku metylu [ $^{11}\text{C}$ ]CH<sub>3</sub>I, zapewnia on kilka korzyści [95-99]. [ $^{11}\text{C}$ ] triflat metylu jest mniej lotny, a więc łatwiej go wychwycić w małych objętościach rozpuszczalnika. Zazwyczaj reakcje metylacji heteroatomów z [ $^{11}\text{C}$ ] triflatem metylu przebiegają z większą wydajnością radiochemiczną, przy krótszym czasie reakcji i w niższej temperaturze reakcji, w porównaniu z reakcjami prowadzonymi przy użyciu [ $^{11}\text{C}$ ] jodku metylu. Ponadto, potrzebne są mniejsze ilości prekursora, co ma znaczenie dla łatwego oczyszczania produktu końcowego i kosztu syntezy [100-103].

W kolejnym etapie dotyczącym produkcji (( $^{11}\text{C}$ )-metyl) Choliny, jako prekursora zastosowano dimetyloaminoetanol (DMAE), jak we wszystkich opisanych metodach (tabela 13). Jednak w porównaniu do innych metod nie użyto do rozcieńczenia prekursora innego rozpuszczalnika. W przypadku metody Szydło [98] został użyty dimetyloformamid (DMF), który wg farmakopei jest rozpuszczalnikiem II klasy, którego stosowanie należy ograniczyć. Rezygnacja z dodania dodatkowego rozpuszczalnika nie miała wpływu na wydajność syntezy, w porównaniu do tej metody Szydło miała też wyższą wydajność RCY.

Kolejną modyfikacją, którą zastosowano, było użycie dwóch kolumn anionowymiennych Sep-Pak Light Accell Plus CM. Zmodyfikowane zostały dwie metody i połączone w jedną. Metoda Reischl, w której pętli użyto jako materiału wiążącego prekursor DMAE, a kolumny Sep-Pak Light Accell Plus CM jako materiału oczyszczającego, mającego za

zadanie wychwycić pozostałości DMAE [86]. Metoda Shao, w której kolumny Sep-Pak Light Accell Plus CM użyto jako materiału wiążącego prekursor DMAE, w tej metodzie zrezygnowano z kolumny typu C18 jako kolumny oczyszczającej ze skutkiem pogorszenia wydajności radiochemicznej, ale poprawie czystości chemicznej przez obniżenie ilości DMAE [95]. Połączenie tych dwóch metod i użycie dwóch kolumn Sep-Pak Light Accell Plus CM pierwszej wiążącej, a drugiej oczyszczającej DMAE, pozwoliło na osiągnięcie wydajności radiochemicznej na poziomie RCY = 80% i czystości chemicznej dla DMAE >2,5 µg/mL przy farmakopealnym limicie dopuszczalnym wynoszącym 200 µg/mL (tabela 21). Toksyczność DMAE jest na niskim poziomie, dlatego limit dopuszczalny wg farmakopei wynosi 1 mg/V, gdzie V jest największą zalecaną dawką w mililitrach (V=5mL). Ograniczenie DMAE w preparacie końcowym jest bardzo ważne, z uwagi na jego redukujący wpływ wychwyty ([<sup>11</sup>C]-metyl)Choliny w guzie [104-106].

**Tabela 13.** Porównanie metod syntezy ([<sup>11</sup>C]-metyl)Choliny.

Metoda	[ <sup>11</sup> C]CH <sub>3</sub> OTf/ [ <sup>11</sup> C]CH <sub>3</sub> I	Prekursor	Ilość (µL)	Kolumna SPE	RCY (%)	RCP (%)
Shao [95]	[ <sup>11</sup> C]CH <sub>3</sub> I	DMAE/EtOH	40/20	CM	63,1	99,9
Reischl [96]	[ <sup>11</sup> C]CH <sub>3</sub> I	DMAE	60	CM + pętla	80	99,9
Kuznetsova [97]	[ <sup>11</sup> C]CH <sub>3</sub> I	DMAE/EtOH	30/50	CM + tC18	85	99,5
Szydło [98]	[ <sup>11</sup> C]CH <sub>3</sub> I	DMAE/DMF	10/200	CM	20	>99,9
Szydło [99]	[ <sup>11</sup> C]CH <sub>3</sub> I	DMAE/DMF	10/200	CM + HLB	20	>99,9
<b>Ta metoda</b>	[ <sup>11</sup> C]CH <sub>3</sub> OTf	DMAE	40	2 x CM	80	>99,9

W wyniku prowadzonych prac wykonano syntezę ([<sup>11</sup>C]-metyl) Choliny przy użyciu prekursora DMAE z zastosowaniem dwóch kolumn Sep-Pak Light Accell Plus CM, w czasie 20 minut przy wydajności RCY = 80% i czystości radiochemicznej RCP >99%.

## 5.4. Automatyczna radiosynteza[1-<sup>11</sup>C] Octanu Sodiu na module Explora AC

Zauważono znaczący wpływ zadanej szybkości przepływu [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> przez roztwór metylobromku magnezu (CH<sub>3</sub>MgBr) w eterze dietylowym w trakcie rozładowywania materiału tarczy oraz z czasie odparowywania rozpuszczalników po dodaniu wody. W przypadku zbyt silnego przepływu następowało rozchlapanie roztworu po ściankach reaktora, co utrudniało ugaszenie CH<sub>3</sub>MgBr oraz odparowanie rozpuszczalników w kolejnym etapie. Dodatkowo zbyt szybki przepływ obniżył wydajność wiązania się [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> z CH<sub>3</sub>MgBr. Zbyt wolny przepływ obniżył wydajność reakcji przez zbyt długi czas potrzebny na rozładowanie materiału tarczy oraz spowodował powolne wypchnięcie oparów rozpuszczalników z reaktora w kolejnym etapie (tabela 14).

**Tabela 14.** Wpływ przepływu gazu na wydajność reakcji.

Szybkość przepływu (mL/min)	Wydajność RCY (%)
10	50
20	65
30	50
40	50
50	40
60	30

Warunki prowadzenia syntezy: EOB= 50 GBq, CH<sub>3</sub>MgB, n = 3

W przypadku etapu przepływu [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> przez roztwór metylobromku magnezu (CH<sub>3</sub>MgBr) najkorzystniejszą szybkością przepływu gazu była szybkość 20 mL/min. Jednak w etapie odparowywania rozpuszczalników okazało się, że połączenie szybkości przepływu powolnego z szybkością przepływu szybkiego było najbardziej korzystne. Ustawiono procedurę w taki sposób, aby zawór iglicowy zmniejszał przepływ gazu wymiatającego na początku procesu odparowywania do 20 mL/min (co nazwane jest odparowywaniem pod wolnym strumieniem). Podczas ostatnich etapów odparowywania strumień gazu wymiatającego omijał zawór iglicowy i przeszedł bezpośrednio przez ciecz w probówce z szybkością przepływu 50 mL/min

(nazwane odparowywaniem pod szybkim strumieniem). Pozostałości rozpuszczalników zostały odprowadzane do naczynia na odpady płynne, zaś nietlotny anion octanowy  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{CO}_2^-$  pozostał w probówce.

Porównując otrzymane wyniki z wcześniejszymi pracami dotyczącymi syntezy  $[1-^{11}\text{C}]\text{Octanu Sodu}$  widać, że zadany przepływ na tym etapie rozładowywania materiału tarczy powinien być jednostajny i łagodny, jednak poziom przepływu gazu na etapie odparowywania rozpuszczalników może być już wyższy, co wpływa korzystnie na wydajność syntezy (tabela 15).

**Tabela 15.** Porównanie użytej szybkości przepływu na wydajność radiochemiczną.

<b>Metoda</b>	<b>Szybkość przepływu podczas rozładowywania materiału tarczy (mL/min)</b>	<b>Szybkość przepływu podczas odparowywania rozpuszczalników (mL/min)</b>	<b>Wydajność RCY (%)</b>
<b>Moerlein [107]</b>	10	30	60-69
<b>Soloviev [108]</b>	8 -15	-	65
<b>Roeda [109]</b>	6	-	82
<b>Kruijer [110]</b>	50	-	60-65
<b>Ta praca</b>	20	20/50	60-65

Ważnym etapem było ugaszenie nieprzereagowanego  $\text{CH}_3\text{MgBr}$  przy użyciu wody (tabela 16). Przy objętości dodanej wody  $50\ \mu\text{L}$  zaobserwowano niższe wydajności reakcji. Było to spowodowane zbyt małą ilości wody w stosunku do nieprzereagowanego  $\text{CH}_3\text{MgBr}$ . Dodatkowo zauważono pojawienie się piku związku pobocznego (zanieczyszczenie A rycina 34). Za duża ilość wody  $200\text{-}250\ \mu\text{L}$  powodowała ugaszenie nieprzereagowanego



spowodowała wydłużenie procesu destylacji do fiolki produktu pośredniego, co jak w przypadku za dużej ilości wody, miało wpływ na czas reakcji, a tym samym na jego wydajność.

**Tabela 17.** Wpływ ilości dodanego kwasu na wydajność radiochemiczną.

Ilość kwasu ( $\mu\text{L}$ )	RCY (%)
50	10
100	20
150	35
200	55
250	65
300	40
350	30

Warunki prowadzenia syntezy: EOB= 50 GBq,  $\text{CH}_3\text{MgBr}$ ,  
woda 150  $\mu\text{L}$ , n = 3

W czasie przygotowywania metylobromku magnezu ( $\text{CH}_3\text{MgBr}$ ) w eterze dietylowym, zaobserwowano zależność pomiędzy warunkami przygotowania, a wydajnością. Pierwsze na co zwrócono uwagę to, przygotowanie roztworu, które musi odbywać się w warunkach o obniżonej wilgotności i w atmosferze gazu obojętnego. Do tego celu zastosowano komorę rękawicową z możliwością pracy w atmosferze argonu. W przypadku przygotowywania roztworu w warunkach wilgotności powyżej 30% wydajność reakcji obniżyła się o 40%. Oznacza to, że odczynnik Grignarda wychwytywał pozostałości wody z powietrza obniżając swoją wydajność.

Istotne znaczenie miało również dodanie  $\text{CH}_3\text{MgBr}$  do eteru dietylowego. W momencie dodania roztworu zbyt szybko lub wlewając go po ściance/ścianie reaktora, nastąpiło wytrącenie się osadu, który również obniżał wydajność reakcji.

W pierwszych próbach radioznakowanie przeprowadzono z użyciem mieszaniny eter dietylowy/THF. Jednak w późniejszych syntezach zrezygnowano z użycia dodatku tetrahydrofuranu (THF) do eteru dietylowego. Rozpuszczalniki w zależności od potencjalnej

toksyczności zaklasyfikowane są do trzech klas: I klasa – rozpuszczalniki, których należy unikać, II klasa – rozpuszczalniki, których stosowanie należy ograniczać, III klasa – rozpuszczalniki o niskim potencjale działania toksycznego. THF jest zaklasyfikowany do II klasy, co oznacza, że średnio toksyczny i jego wpływ może mieć bardzo niekorzystny wpływ na zdrowie. Eter dietylowy zaklasyfikowany jest do rozpuszczalników klasy III, czyli o niskim potencjale toksyczności i wpływie na zdrowie. Zrezygnowanie z dodatku THF nie miało wpływu na wydajność radiosyntezy. Większość prac przedstawia syntezę z zastosowaniem THF, co może mieć istotny wpływ na wyższe potencjalne zagrożenie przy zastosowaniu go w badaniach diagnostycznych (tabela 18).

**Tabela 18.** Porównanie metod syntezy [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.

Metoda	Czas (min)	Wydajność (%)	Czystość (%)	Rozpuszczalnik	Odczynnik Grignarda (RMg-X)
Moerlein [107]	23	60-69	95-98	eter	Br
Soloviev [108]	5	65	98,6 ± 1.1	THF	Cl
Roeda [109]	12	82	-	THF	Cl
Kruijer [110]	20 min	60-65	>99	THF	Cl
Jang [111]	20 min	84.33 ± 8.85	>98	THF	Cl
Berridge [112]	15	60	-	THF	Cl
Ta praca	12	60-65	>98	eter	Br

W wyniku prowadzonych prac wykonano syntezę [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu przy użyciu prekursora CH<sub>3</sub>MgBr z zastosowaniem destylacji, jako metody oczyszczania w czasie 12 minut przy wydajności RCY = 60-65% i czystości radiochemicznej RCP >98%.

## **5.5. Czas rozlewu serii wybranych radiofarmaceutyków na różnych typach dyspenserów**

Rozlew poszczególnych radiofarmaceutyków przeprowadzono na tych samych typach dyspenserów. Jak można zauważyć czasy przygotowania danego radiofarmaceutyku na określonym typie urządzenia były takie same (rycina 35,36,37,38). Rozlew nie zależał od typu przygotowywanego radiofarmaceutyku, a od automatyzacji urządzenia, doświadczenia operatora oraz typu opakowania końcowego: fiolki lub strzykawki.

Najdłuższy czas potrzebny do wykonania rozlewu należało poświęcić używając dyspenserów fiolkowych. Dla dyspensera Clio czas ten wyniósł 36 minut, a dla dyspensera Theodorico 24 minuty. Wydłużony czas w porównaniu do prowadzenia rozlewu na dyspenserach strzykawkowych wynikał stąd, że fiolka nie była opakowaniem, z którego bezpośrednio można podać dawkę pacjentowi. Dlatego w przypadku fiolek należało przenieść odpowiednią aktywność do strzykawki, co wymagało użycia drugiego dyspensera, a tym samym ostateczny czas przygotowania dawki dla pacjenta został wydłużony o czas potrzebny na przygotowanie dodatkowego dyspensera.

Dyspenser Althea miał dwa zastosowania w czasie prowadzenia badań. W pierwszym zastosowano go jako dyspenser strzykawkowy, do celu przygotowania dawek dla pacjenta z fiolek wyprodukowanych z dyspenserów Clio (w przypadku zastosowania rozlewu na fiolki) oraz Theodorico. W tym przypadku nie została użyta modyfikacja polegająca na zastosowaniu wagi oraz nie wykonywano testu BPT.

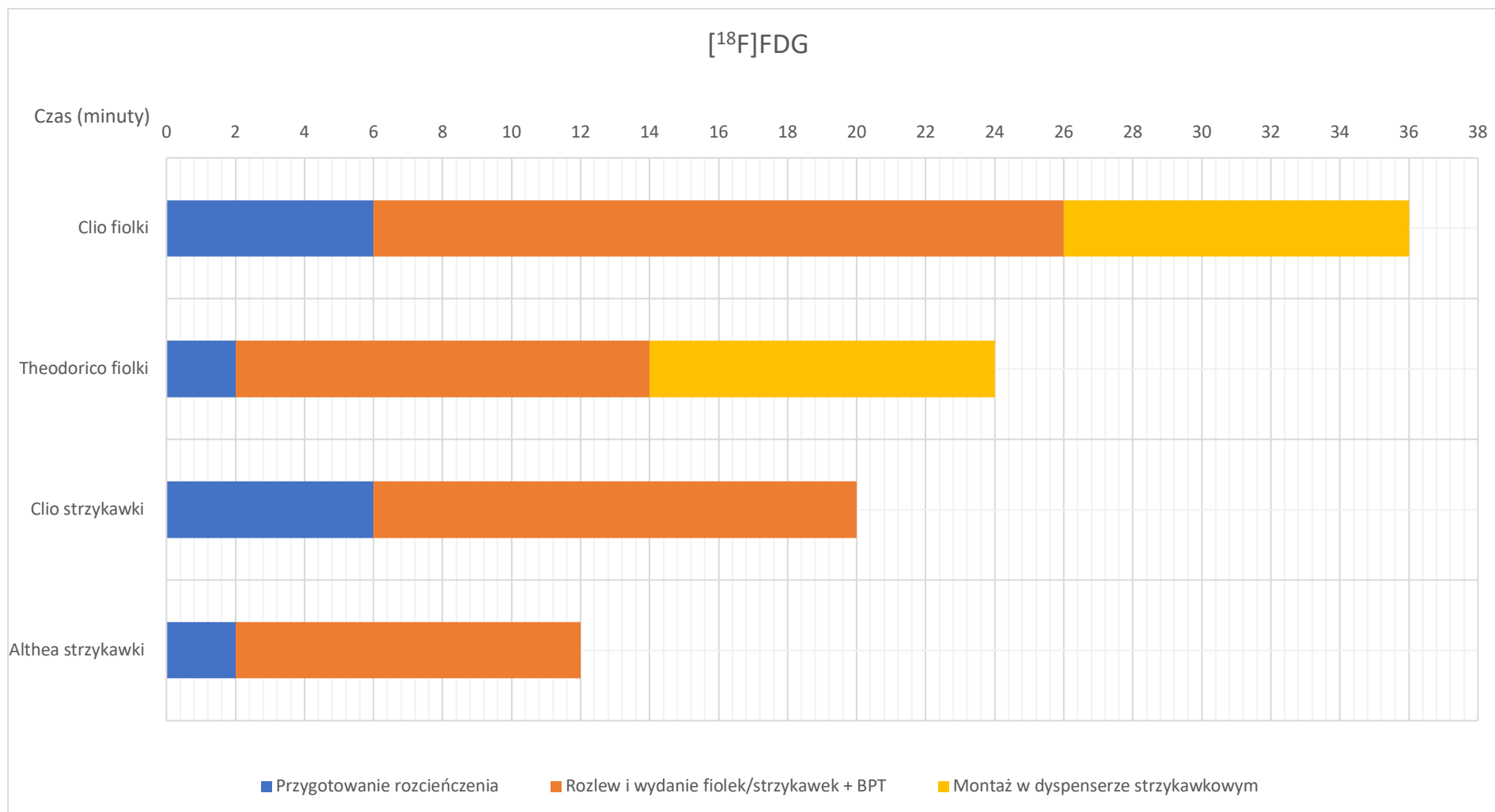
W drugim przypadku zastosowano go jako niezależny dyspenser, w którym wprowadzono modyfikacje polegające na dodaniu wagi oraz testu BPT na dyspenserze Theodorico. Należy wspomnieć, że dyspenser Althea w porównaniu do wcześniej omawianych dyspenserów nie jest urządzeniem do przygotowania radiofarmaceutyków w warunkach określonych Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 9 listopada 2015 (Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 28 kwietnia 2022 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie wymagań Dobrej Praktyki Wytwarzania) Aneks 3 Wytwarzanie Produktów Radiofarmaceutycznych oraz Aneks 1 Wytwarzanie Sterylnych Produktów Leczniczych [82]. Praca tego urządzenia nie jest tak precyzyjna jak innych rozpatrywanych dyspenserów. Prace na tym urządzeniu zostały przeprowadzone wyłącznie na potrzeby tej pracy.



Porównując do siebie rozlew na dyspenserach fiolkowych można zauważyć, że czas przygotowania fiolek na dyspenserze Theodorico trwał o 12 minut krócej, w porównaniu do przygotowania ich na dyspenserze Clio. Dyspenser Theodorico jest urządzeniem automatycznym, a rozlew wykonywany został przy użyciu ramienia robota. Płynie działające ramię robota, według przygotowanej procedury, poprawiło czas potrzebny na rozlew. Wynikało to stąd, że operator w tym przypadku jedynie obserwował zachowanie robota, który był w stanie wykonać kilka czynności jednocześnie. Dyspenser, w tym samym czasie, był w stanie napełnić jedną fiolkę, a drugą wydać na zewnątrz do kontenera ołowianego. W przypadku gdy rozlew przeprowadzono na dyspenserze półautomatycznym, operator sam wykonywał niektóre czynności takie jak: przenoszenie fiolek i ich wydawanie. Aby uniknąć niepotrzebnych błędów operator skupił się na wykonaniu jednej czynności na raz. Dodatkowo oprócz różnic w samym rozlewie, można zauważyć różnice w czasie przygotowania rozcieńczenia. Dyspenser Clio na wstępie obliczył koncentrację pobierając do strzykawki 3 razy po 1 mL radiofarmaceutyku. Każdy ubytek 1 mL z bulk został zmierzony przy użyciu kalibratora dawki. W przypadku Theodorico działanie to nie zostało wykonane co wpłynęło na skrócenie czasu przygotowania. Nie zauważono istotnych różnic w szybkości wprowadzania NaCl 0.9% w celu rozcieńczenia radiofarmaceutyku do określonej koncentracji.

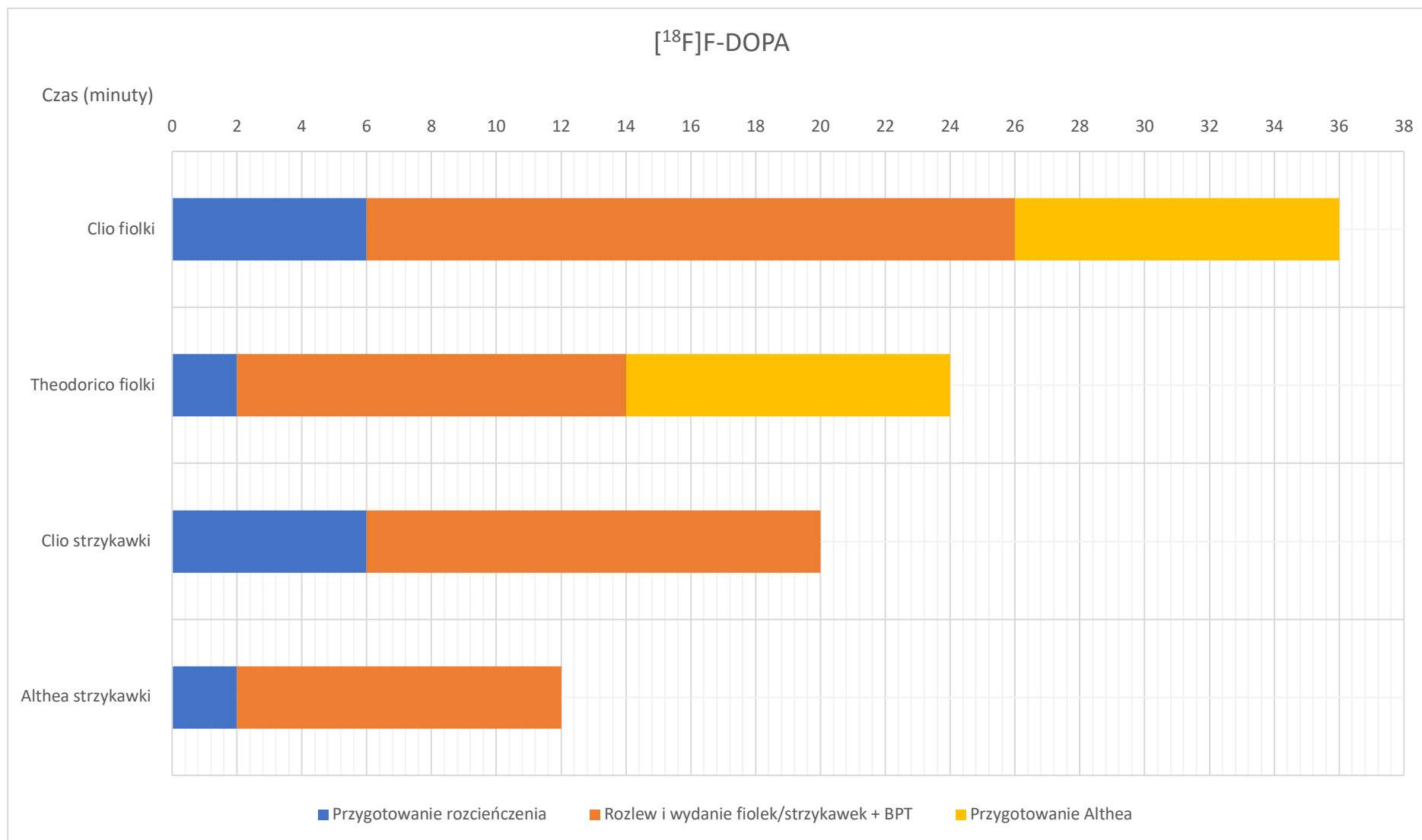
Porównując do siebie dyspensery strzykawkowe zauważono, że przygotowanie strzykawk na dyspenserze trwało o 8 minut dłużej, niż na dyspenserze Althea.. Dyspenser Clio jest dyspenserem półautomatycznym o wysokiej precyzji działania. Napełnianie strzykawk przy użyciu tego dyspensera rozpoczynało się od wyliczenia koncentracji stężonego radiofarmaceutyku, a następnie odmierzenia odpowiedniej ilości NaCl 0.9% do rozcieńczenia do zadanej koncentracji przez robota. Wszystkie te czynności wpłynęły na czas potrzebny do przygotowania strzykawk, jednak zapewniły bezpieczeństwo stosowania. Wykonywanie procedur ręcznie na zmodyfikowanym dyspenserze Althea, wpłynęło na poprawienie czasu procesu, jednak zmniejszyło precyzję oraz bezpieczeństwo stosowania.





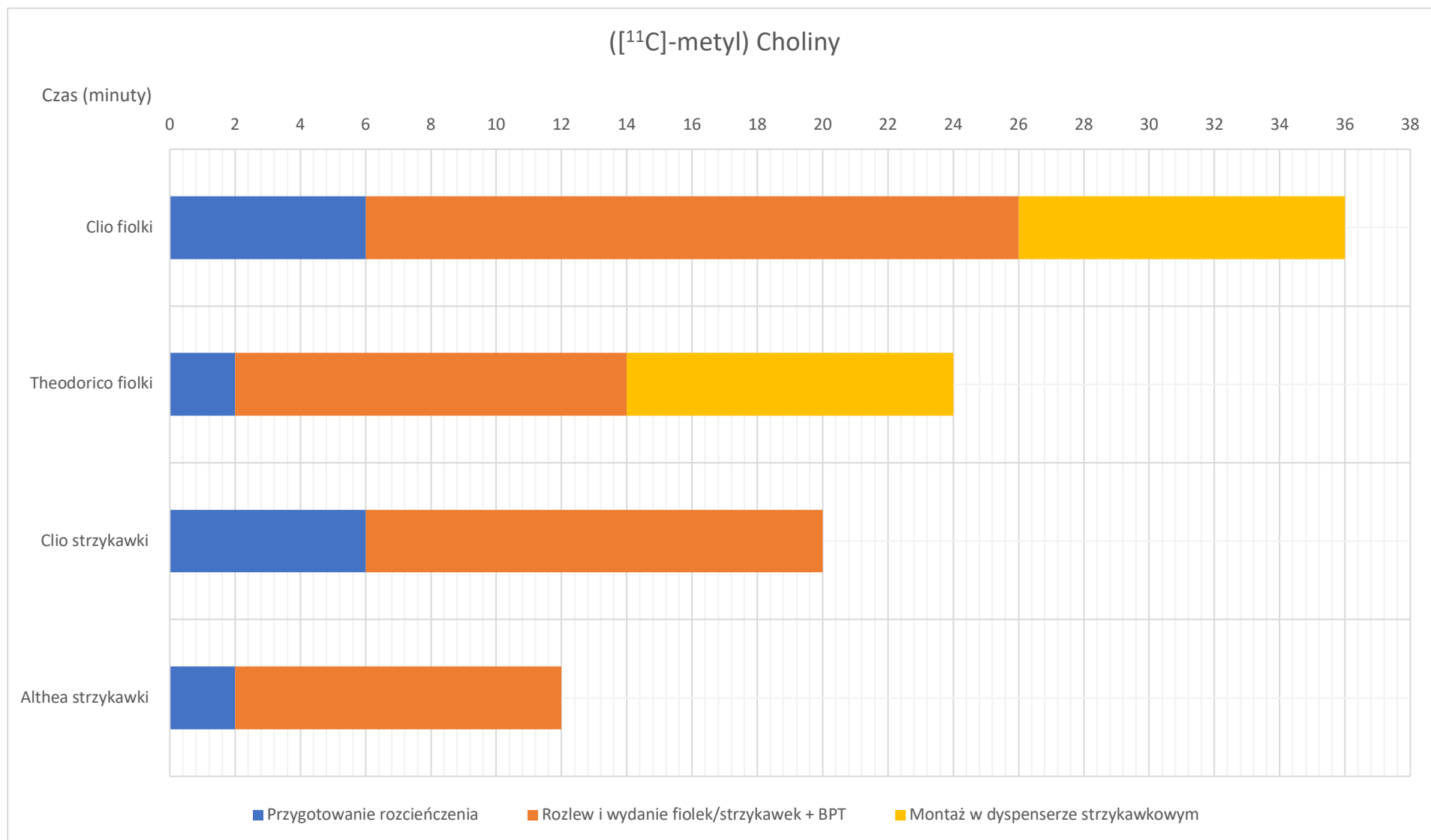
**Rycina 35.** Czas rozlewu  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  na różnych typach dyspenserów.





**Rycina 36.** Czas rozlewu  $[^{18}\text{F}]\text{F-DOPA}$  na różnych typach dyspenserów.

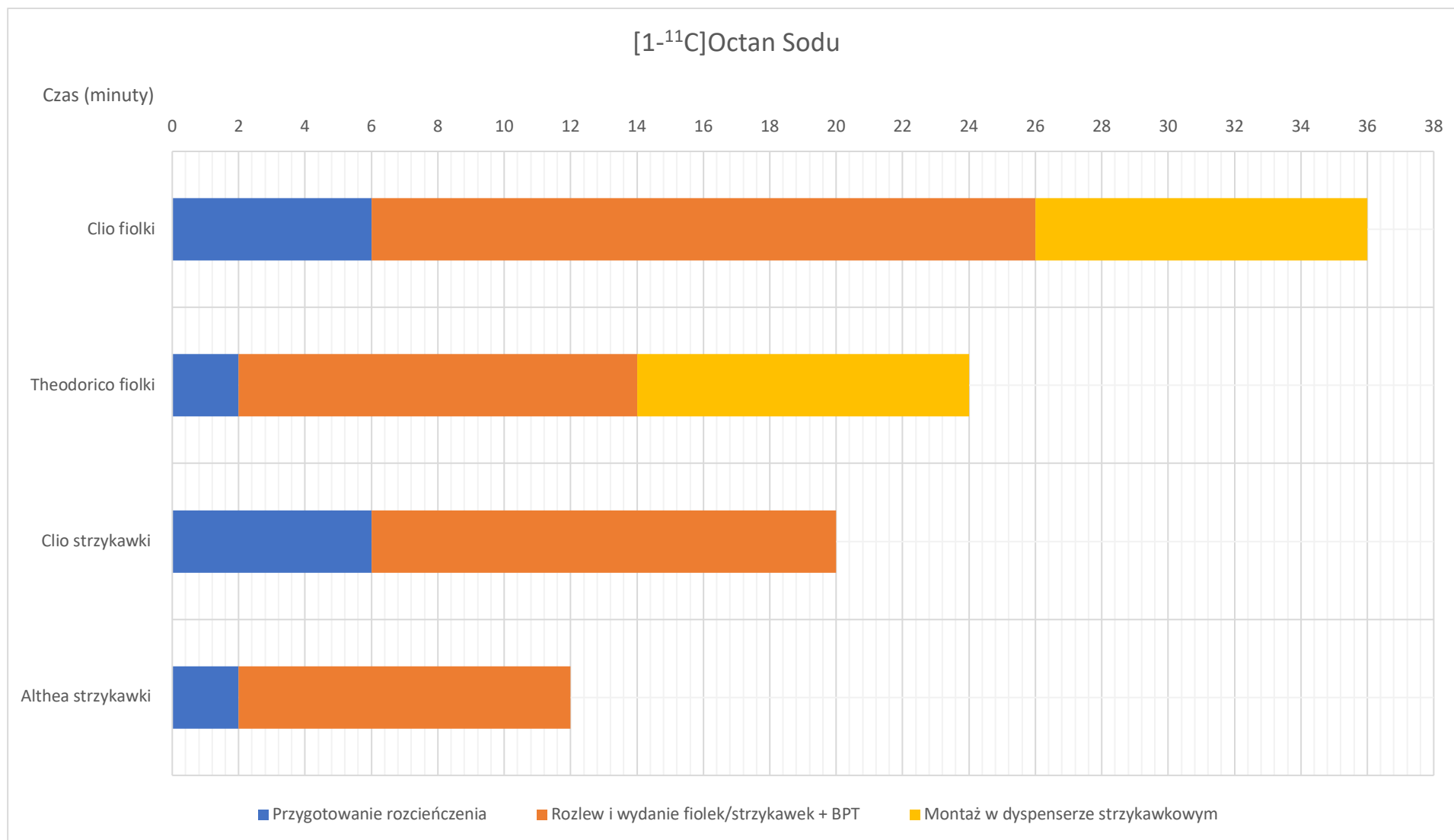




**Rycina 37.** Czas rozlewu ([<sup>11</sup>C]-metyl) Choliny na różnych typach dyspenserów.







**Rycina 38.** Czas rozlewu  $[1-^{11}\text{C}]\text{Octanu Sodu}$  na różnych typach dyspenserów.



## 5.6. Wyniki i czas kontroli jakości wybranych radiofarmaceutyków

Przeprowadzono kontrolę jakości wszystkich radiofarmaceutyków. Dla każdego radiofarmaceutyku wykonano po 3 testy kontroli jakości w celu sprawdzenia i potwierdzenia powtarzalności procesu. Wszystkie użyte w pracy metody kontroli jakości zostały oparte o wytyczne Farmakopei Polskiej wydanie XII [83] oraz Farmakopei Europejskiej wydanie X [84]. Kontrolę jakości wykonano w trzech różnych konfiguracjach, z których każda obejmowała wszystkie wymagane w Farmakopei testy oraz:

- kontrolę jakości z zastosowaniem metody I oznaczania endotoksyn oraz GC (Ryciny 44,53,59,66),
- kontrolę jakości z zastosowaniem metody II oznaczania endotoksyn oraz GC (Ryciny 45,54,60,67),
- kontrolę jakości bez oznaczania endotoksyn oraz GC (Ryciny 46,55,61,68).

Testy wykonano w kolejności, która pozwoliła na jak najszybsze ich zakończenie. W każdej z konfiguracji zmierzono czas potrzebny na wykonanie testów, przygotowanie dokumentów oraz zwolnienie serii przez Osobę Wykwalifikowaną (QP). Wyniki kontroli jakości dla wszystkich radiofarmaceutyków mieszczą się w zakładanych limitach akceptacji. Wyniki przedstawiono w tabelach 19 – 22 oraz dołączono reprezentatywne ryciny dla testów QC1: [<sup>18</sup>F]FDG (Ryciny 39–43), [<sup>18</sup>F]F-DOPA (Ryciny 47-54), ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina (Ryciny 56-61), [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodiu (Ryciny 62-65).

Zgodnie z założeniami Farmakopei, niektóre testy mogą być wykonane po zwolnieniu danego radiofarmaceutyku do zastosowania. Wynika to ze specjalnej charakterystyki preparatów bazujących na izotopach krótkożyciowych. Badania takie jak jałowość oraz badanie B, których wyniki są uzyskiwane po kilka dniach a nawet tygodniach po zwolnieniu są jak najbardziej wskazane do wykonania po zastosowaniu. Należy jednak zwrócić uwagę, że do badań, które mogą być wykonane po zwolnieniu, są również badanie endotoksyn oraz pozostałości rozpuszczalników.

We wszystkich przypadkach najwięcej czasu poświęcono wykonaniu testów z zastosowaniem konfiguracji z metodą I oznaczania endotoksyn. Wynikało to z długiego czasu przygotowania próbki jak i samej analizy wynoszącej łącznie 90 minut. W przypadku radiofarmaceutyków bazujących na fluorze <sup>18</sup>F, czas ten nie przekroczył czasu połowicznego

rozpadu tego izotopu, jednak w przypadku znaczników mających w swojej strukturze węgiel  $^{11}\text{C}$  czas  $T_{1/2}$  został przekroczony 4,5 razy. Przyglądając się badaniom z zastosowaniem metody II oznaczania endotoksyn, czas testu został skrócony z 90 do 45 minut. Oznacza to, że czas  $T_{1/2}$  dla izotopu węgla  $^{11}\text{C}$  został przekroczony już tylko 2 razy.

Badanie endotoksyn jest badaniem biologicznym potwierdzającym obecność endotoksyn bakteryjnych bakterii Gram-ujemnych. Endotoksyny, to lipopolisacharydy znajdujące się w ścianach komórkowych bakterii Gram-ujemnych. Pirogeny te są substancjami, które mogą być szkodliwe lub nawet śmiertelne dla ludzi, gdy są podawane powyżej określonych stężeń. Ze względu na specjalną charakterystykę preparatów radiofarmaceutycznych nie można wykonać badania jałowości. Możliwe do wykonania jest badanie endotoksyn, natomiast tylko w przypadku znaczników bazujących na izotopie fluoru  $^{18}\text{F}$ . W tym przypadku powinno się przeanalizować czy straty ilości preparatu są na tyle duże, aby nie móc wykonać tego badania.

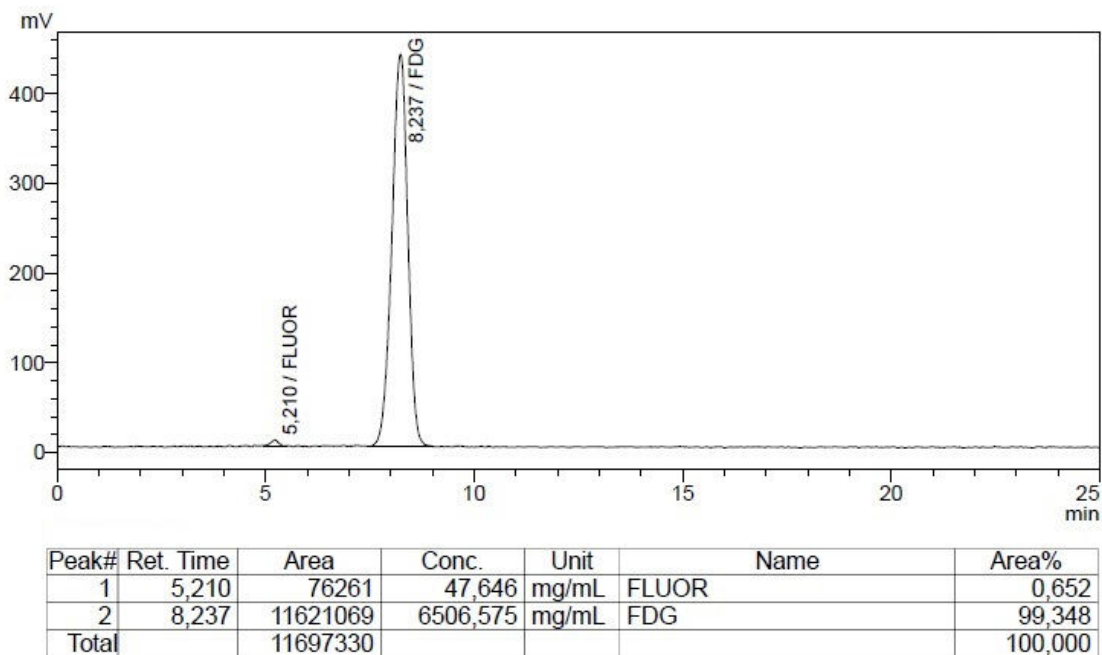
Pojawiające się coraz to nowsze metody badania LAL, przy których wykrywalność endotoksyn można przeprowadzić w czasie 15 minut z czułością na poziomie 0,0005 EU/mL [111], mogą się przyczynić do dodania tego badania do wymaganych testów kontroli jakości przed zwolnieniem.

Wpływ badania pozostałości rozpuszczalników nie miał wpływu na całkowity czas testów kontroli jakości, ponieważ był on równy lub nawet krótszy niż inne wymagane przez Farmakopee testy QC. Oznacza to, że wykonanie badania pozostałości rozpuszczalników nie miało wpływu na straty ilości preparatów bazujących na izotopie fluoru  $^{18}\text{F}$  jak i węgla  $^{11}\text{C}$ . W niektórych syntezach stosuje się rozpuszczalniki klasy II, których ilości powinny być ograniczone w preparatach farmaceutycznych, w tym w radiofarmaceutykach. Stosowane są również rozpuszczalniki, które nie są potencjalnie toksyczne, ale mogą wpływać na wchłanianie danego preparatu, jak miało to miejsce w przypadku ( $^{11}\text{C}$ -metyl)Choliny. Dlatego należy rozważyć czy badanie pozostałości rozpuszczalników również nie powinno być badaniem wymaganym do wykonania, przed zwolnieniem preparatu do zastosowania, przynajmniej dla preparatów, które mogą zawierać rozpuszczalniki potencjalnie toksyczne lub posiadające wpływ na wynik badania PET.

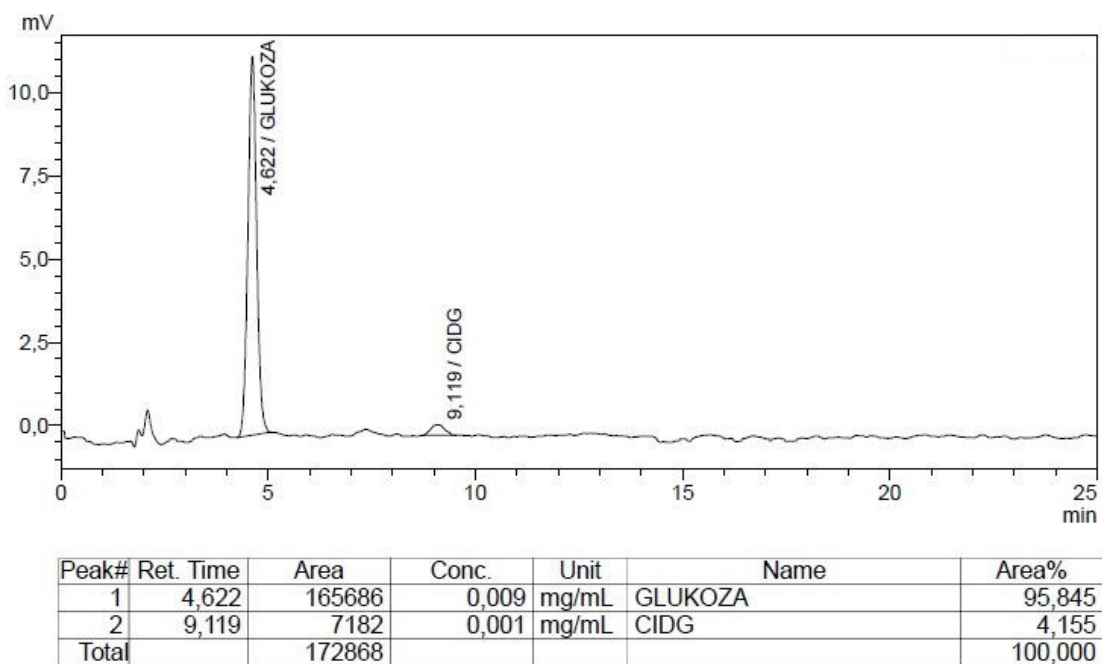
**Tabela 19.** Wyniki kontroli jakości dla [<sup>18</sup>F]FDG.

Test Kontroli Jakości (QC)	Kryteria akceptacji	Wyniki testów Kontroli Jakości (QC)		
		QC 1	QC 2	QC 3
Wygląd	Przezroczysty, bezbarwny lub jasnożółty roztwór	Zgodny	Zgodny	Zgodny
Okres półtrwania	105–115 min	109.5	110	110
<b>Czystość radiochemiczna (HPLC)</b> 2-[ <sup>18</sup> F]fluoro-2-deoksy-D-glukoza i 2-[ <sup>18</sup> F]fluoro-2-deoksy-D-mannoza	≥95% całkowitej radioaktywności	99.35% (rycina 39)	99.31%	99.26%
<b>Czystość chemiczna (HPLC)</b> 2-choloro-2-deoksy-D-glukoza (CIDG)	0.5 mg/5 mL (0.1 mg/mL)	0.001 mg/mL (rycina 40)	0.001 mg/mL	0.000 mg/mL
<b>Endotoksyny bakteryjne</b>	<175 EU/5 mL (<35 EU/mL)	<0.250 EU/mL	<0.250 EU/mL	<0.250 EU/mL
<b>Pozostałość etanolu (GC)</b>	≤50 mg/5 mL (≤10 mg/mL)	0.0355 mg/mL (rycina 41)	0.0599 mg/mL	0.0648 mg/mL
<b>Pozostałość acetonitrylu (GC)</b>	≤ 4.1 mg/5 mL (≤ 0.82 mg/mL)	0.0401 mg/mL (rycina 41)	0.0367 mg/mL	0.0361 mg/mL
<b>Pozostałość metanolu (GC)</b>	≤30 mg/5 mL (≤6 mg/mL)	0.0026 mg/mL (rycina 41)	0.0018 mg/mL	0.000 mg/mL

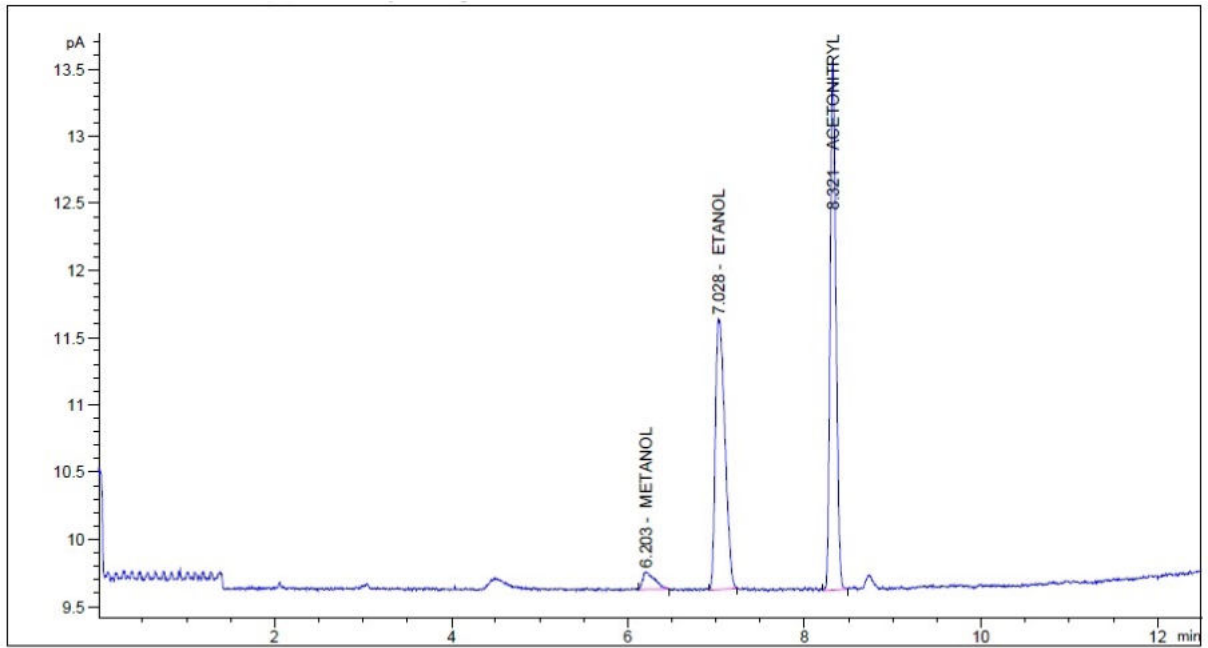
<b>Radiochemical purity (TLC)</b> <b>2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-D-glukoza i 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-D-mannoza</b>	≥95% całkowitej radioaktywności fluoru-18	99.74% (rycina 42)	99.74%	99.78%
<b>pH</b>	4.5–8.5	6.12	6.11	6.51
<b>Tożsamość radionuklidowa</b>	Fotony gamma o energii 497–526 keV	512 keV (rycina 43)	514 keV	516 keV
<b>Czystość radionuklidowa (Badanie A)</b>	Fotony gamma o energii 511 keV lub 1022 keV ≥99.9%	≥99.9% (rycina 43)	≥99.9%	≥99.9%
<b>Zawartość kryptofixu</b>	≤ 2.2 mg/5 mL (≤ 0.44 mg/mL)	≤ 0.44 mg/mL	≤ 0.44 mg/mL	≤ 0.44 mg/mL
<b>Test integralności filtra (Bubble point test)</b>	≥3 Bar	3.8 Bar	4.2 Bar	4.0 Bar
<b>Czystość radionuklidowa (Badanie B) Badanie po &gt; 24h</b>	Całkowita radioaktywność fluoru -18 ≥99.9%	≥99.9%	≥99.9%	≥99.9%
<b>Jałowość</b>	Jałowy	Zgodny	Zgodny	Zgodny



Rycina 39. Czystość radiochemiczna HPLC [<sup>18</sup>F]FDG.



Rycina 40. Czystość chemiczna (HPLC) [<sup>18</sup>F]FDG.

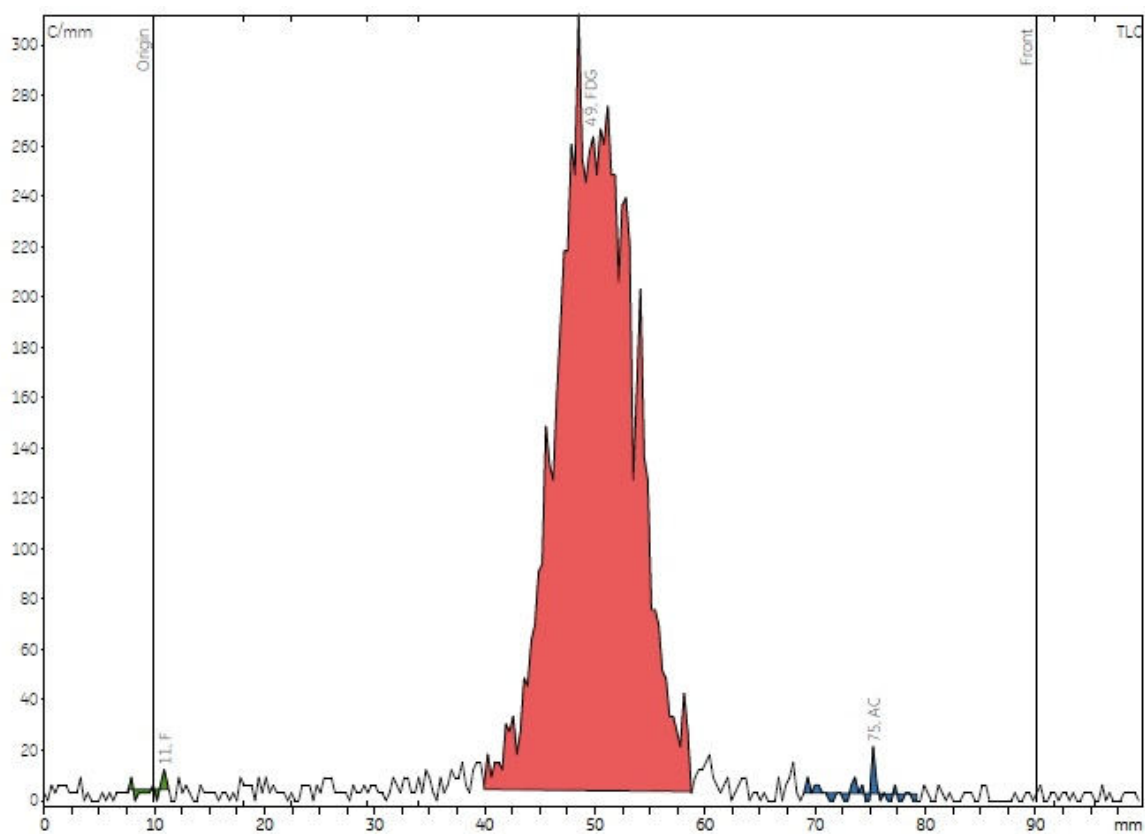


Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Amount [mg/mL]	Name
1	6.203	1	BB	1.21221	2.65560e-3	METANOL
2	7.028	1	BB	15.21808	3.55894e-2	ETANOL
3	8.321	1	BB	18.073117	4.01949e-2	ACETONITRYL

Totals: 7.84399e-2

**Rycina 41.** Pozostałości rozpuszczalników (GC) [<sup>18</sup>F]FDG.

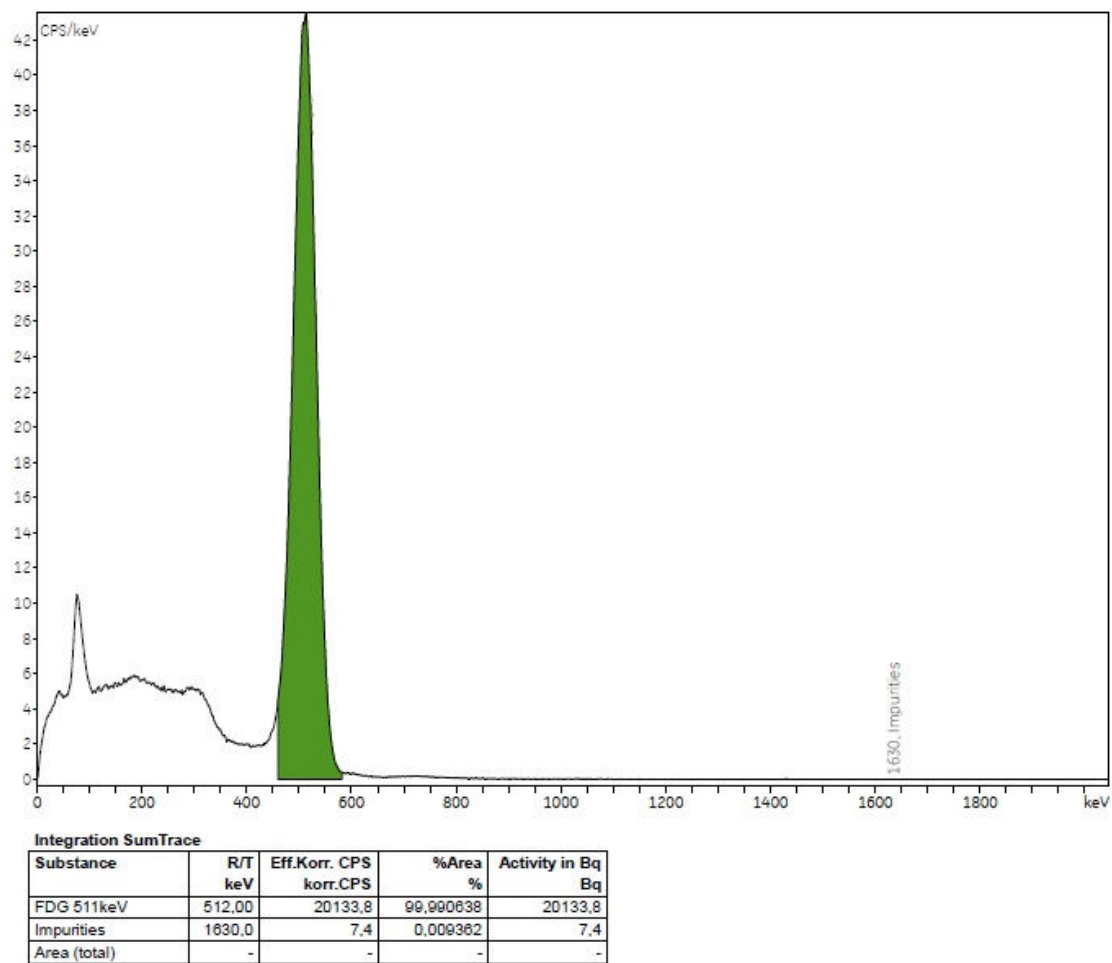




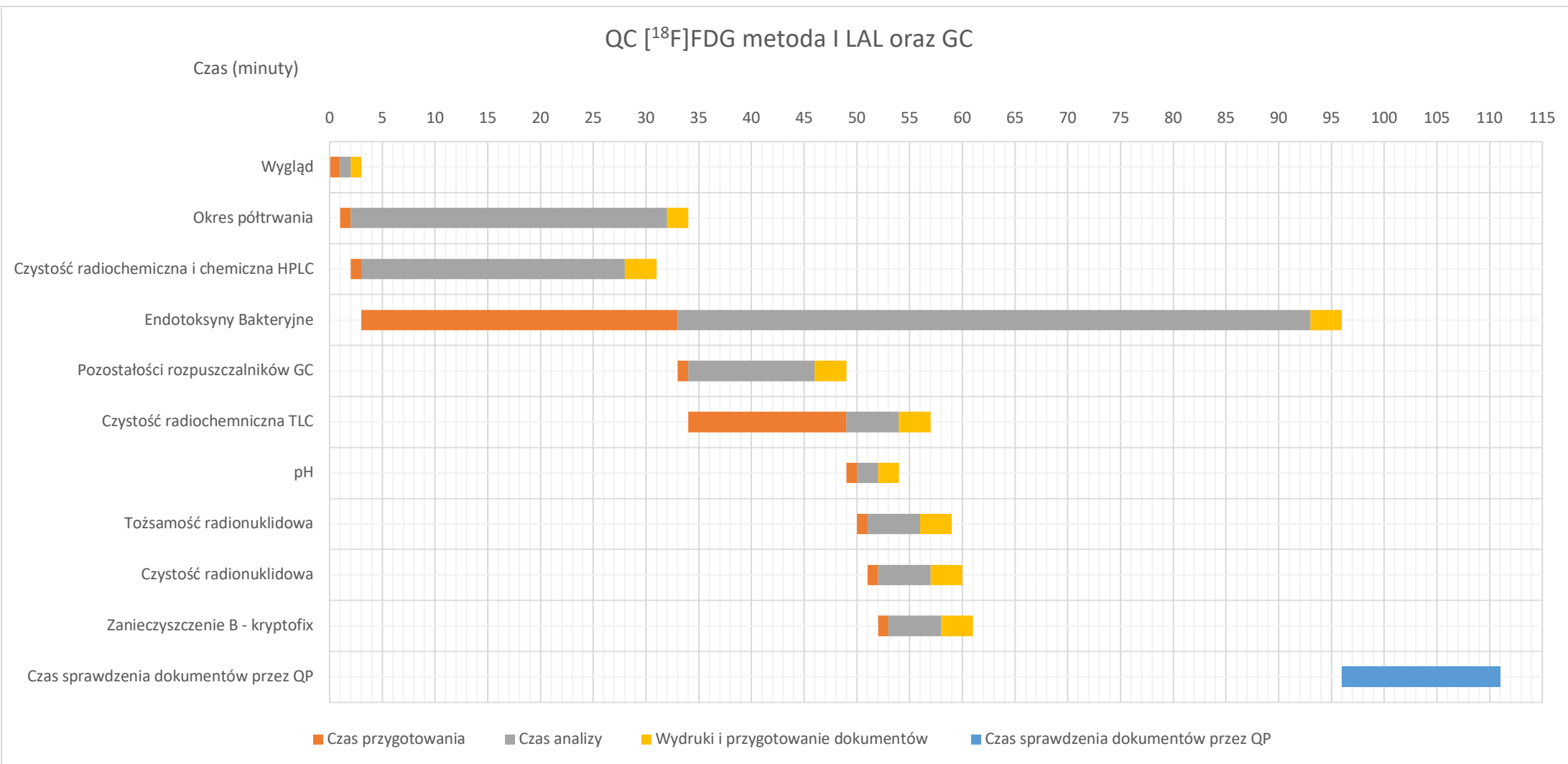
Integration TLC

Substance	R/F	%Total %	Type	Area Counts	%Area %
F	0,008	0,00	DD(C)	-0,077	0,00
FDG	0,490	98,54	DD(M)	2359,677	99,74
AC	0,811	0,26	DD(C)	6,205	0,26
Sum in ROI	-	-	-	2365,805	100,00
Total area	-	-	-	2394,753	-
Area (total) RF	-	-	-	2390,599	-
3 BKG-ROIs	-	-	-	3,8258	-
Remainder (Tot)	-	-	-	28,95	1,21

Rycina 42. Czystość radiochemiczna (TLC) [ $^{18}\text{F}$ ]FDG.



Rycina 43. Czystość i tożsamość radionuklidowa (MUCHA) [<sup>18</sup>F]FDG.



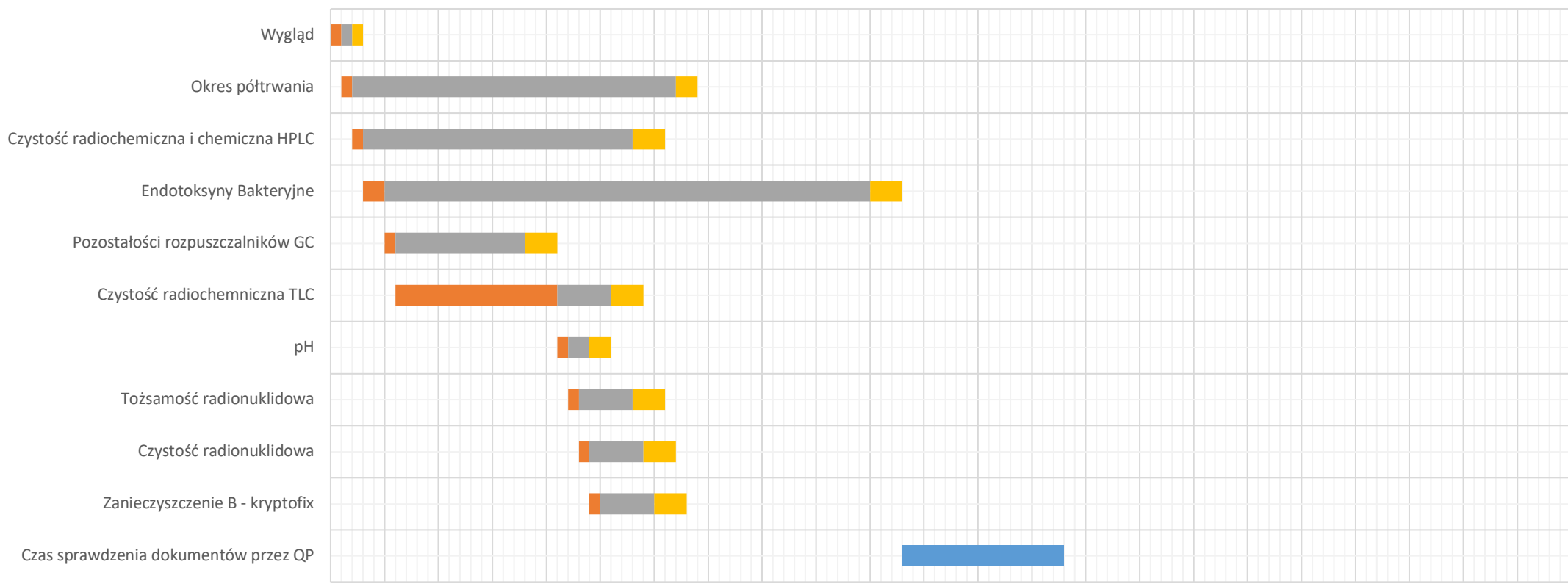
**Rycina 44.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody I oznaczania endotoksyn oraz GC dla [<sup>18</sup>F]FDG.



### QC [<sup>18</sup>F]FDG metoda II LAL oraz GC

Czas (minuty)

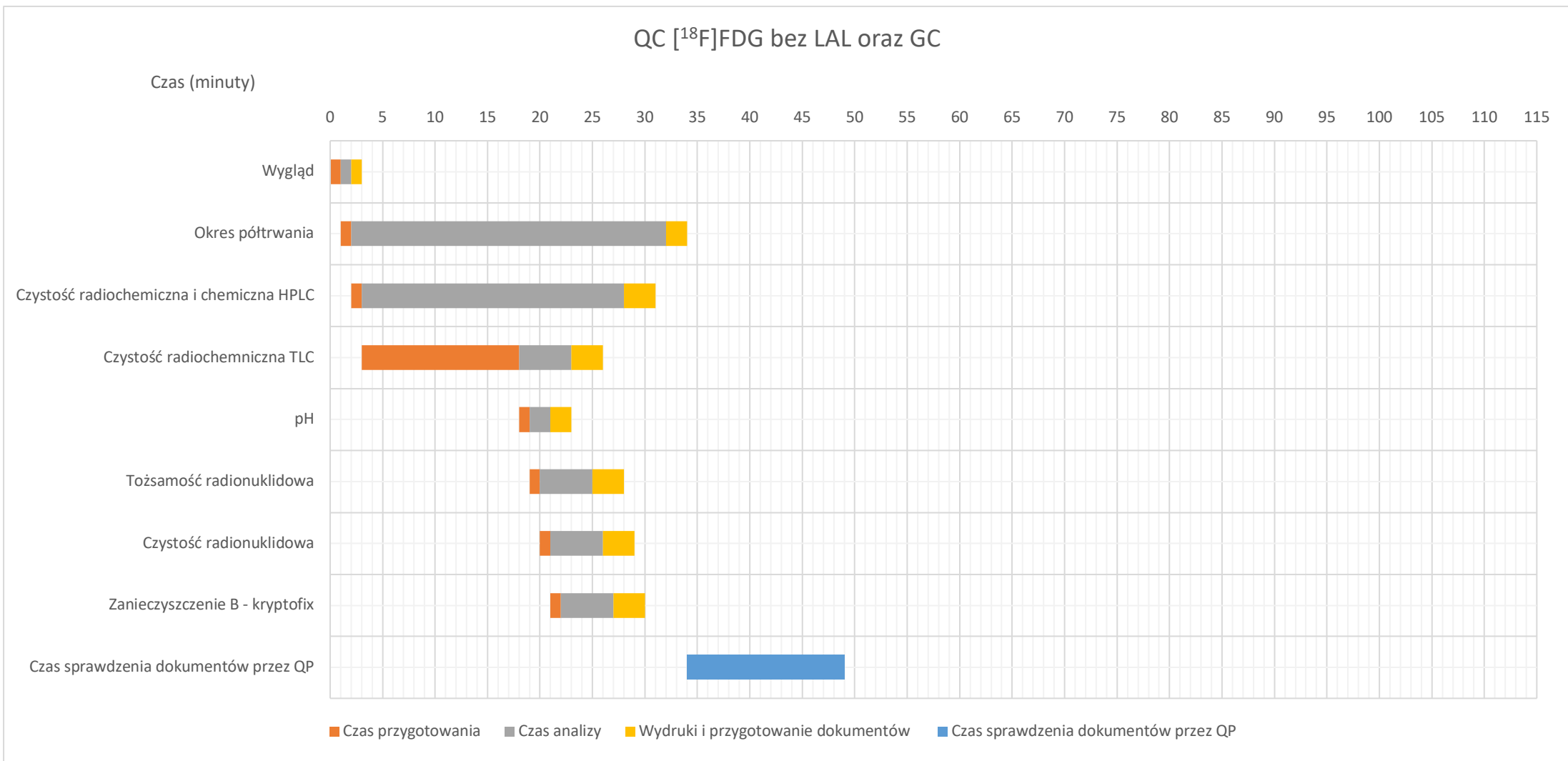
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115



■ Czas przygotowania    ■ Czas analizy    ■ Wydruki i przygotowanie dokumentów    ■ Czas sprawdzenia dokumentów przez QP

**Rycina 45.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody II oznaczania endotoksyn oraz GC dla [<sup>18</sup>F]FDG.





**Rycina 46.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości bez oznaczania endotoksyn oraz GC dla [<sup>18</sup>F]FDG.

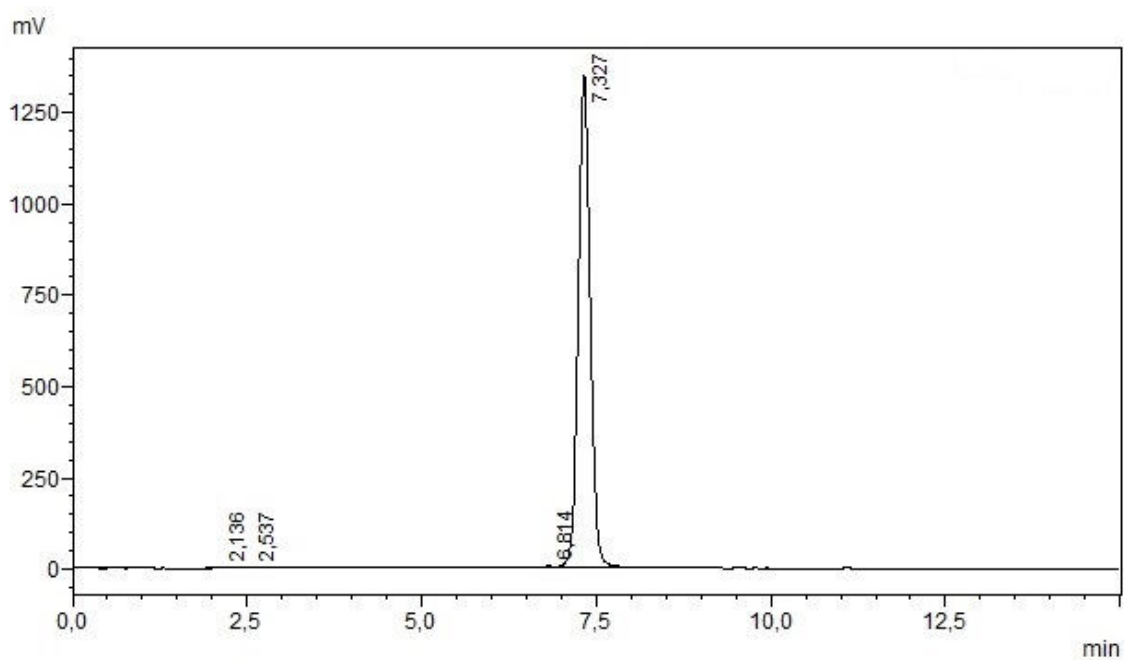




**Tabela 20.** Wyniki kontroli jakości dla [<sup>18</sup>F]F-DOPA.

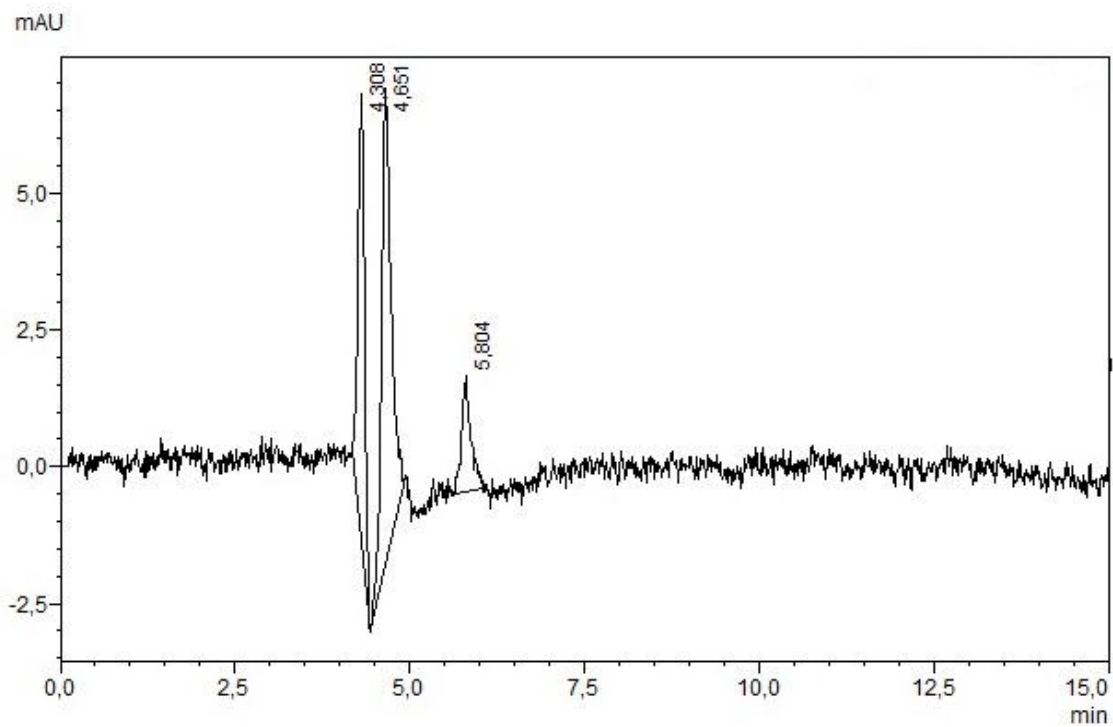
Test Kontroli Jakości (QC)	Kryteria akceptacji	Wyniki testów Kontroli Jakości (QC)		
		QC 1	QC 2	QC 3
<b>Wygląd</b>	Przezroczysty, bezbarwny roztwór	Zgodny	Zgodny	Zgodny
<b>Okres półtrwania</b>	105–115 min	109.5	109	110
<b>Czystość radiochemiczna (HPLC) 6-[<sup>18</sup>F]-DOPA</b>	≥95% całkowitej radioaktywności fluoru-18	99.6% (rycina 47)	97.6%	99.4%
<b>Czystość chemiczna (HPLC) Wszystkie zanieczyszczenia chemiczne</b>	0.5 mg/5 mL (0.1 mg/mL)	0.0107 mg/mL (rycina 48)	0.0180 mg/mL	0.0534 mg/mL
<b>W tym całkowita ilość 6-fluoro-L-DOPA</b>	0.1 mg/5 mL (0.02 mg/mL)	0.0000 mg/mL (rycina 49)	0.0000 mg/mL	0.0000 mg/mL
<b>Czystość enancjomeryczna L-6-[<sup>18</sup>F]F-DOPA</b>	≥96% całkowitej radioaktywności	97.4% (rycina 49)	98.9%	98.1%
<b>Endotoksyny bakteryjne</b>	<175 EU/5 mL (<35 EU/mL)	<0.250 EU/mL	<0.250 EU/mL	<0.250 EU/mL
<b>Pozostałość etanolu (GC)</b>	≤50 mg/5 mL (≤10 mg/mL)	1.063 mg/mL (rycina 50)	0.004 mg/mL	0.2706 mg/mL
<b>Pozostałość acetonitrylu (GC)</b>	≤ 4.1 mg/5 mL (≤ 0.82 mg/mL)	0.7854 mg/mL (rycina 50)	0.0023 mg/mL	0.0029 mg/mL

<b>Pozostałość metanol (GC)</b>	≤30 mg/5 mL (≤6 mg/mL)	0.8294 mg/mL (rycina 50)	0.0028 mg/mL	0.0008 mg/mL
<b>Czystość radiochemiczna (TLC) 6-[<sup>18</sup>F]F-DOPA</b>	≥95% całkowitej radioaktywności fluoru-18	97.9% (rycina 51)	96.2%	95.67%
<b>pH</b>	4.0–5.5	4.8	5.1	5.0
<b>Tożsamość radionuklidowa</b>	Fotony gamma o energii 497–526 keV	516 keV (rycina 51)	516 keV	512 keV
<b>Czystość radionuklidowa (Badanie A)</b>	Fotony gamma o energii 511 keV lub 1022 keV ≥99.9%	≥99.9% (rycina 51)	≥99.9%	≥99.9%
<b>Zawartość TBA</b>	<2.6 mg/5 mL (<0.52 mg/mL)	<0.52 mg/mL	<0.52 mg/mL	<0.52 mg/mL
<b>Test integralności filtra (Bubble point test)</b>	≥3 Bar	4.0 Bar	4.2 Bar	4.0 Bar
<b>Czystość radionuklidowa (badanie B) Badanie po &gt; 24h</b>	Całkowita radioaktywność fluoru -18 ≥99.9%	≥99.9%	≥99.9%	≥99.9%
<b>Jałowość</b>	Jałowy	Zgodny	Zgodny	Zgodny



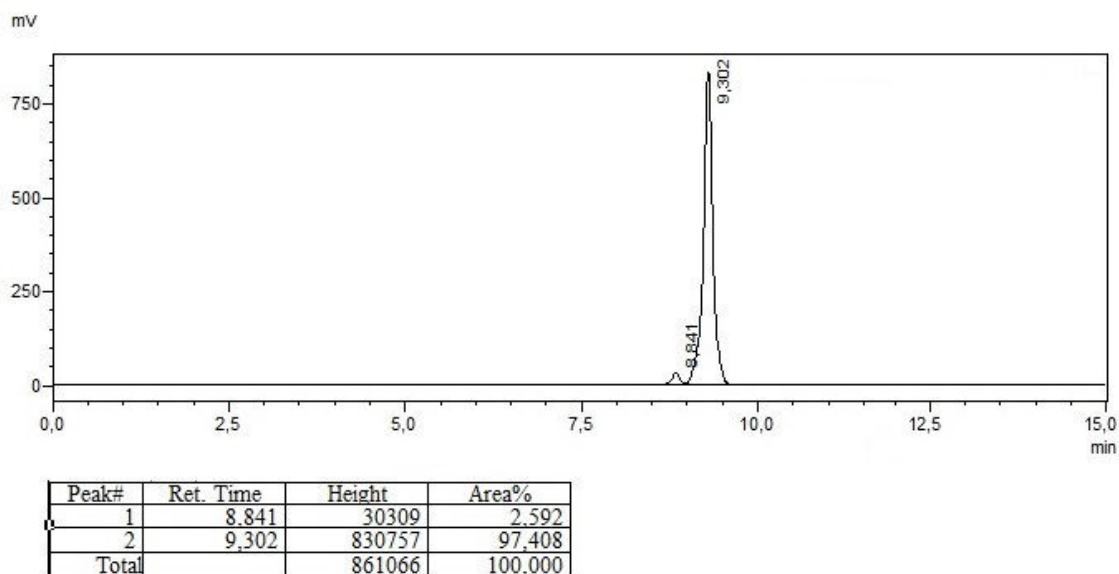
Peak#	Ret. Time	Height	Area%
1	2,136	2442	0,138
2	2,537	1864	0,122
3	6,814	2135	0,098
4	7,327	1344732	99,643
Total		1351173	100,000

**Rycina 47.** Czystość radiochemiczna (HPLC) [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA.

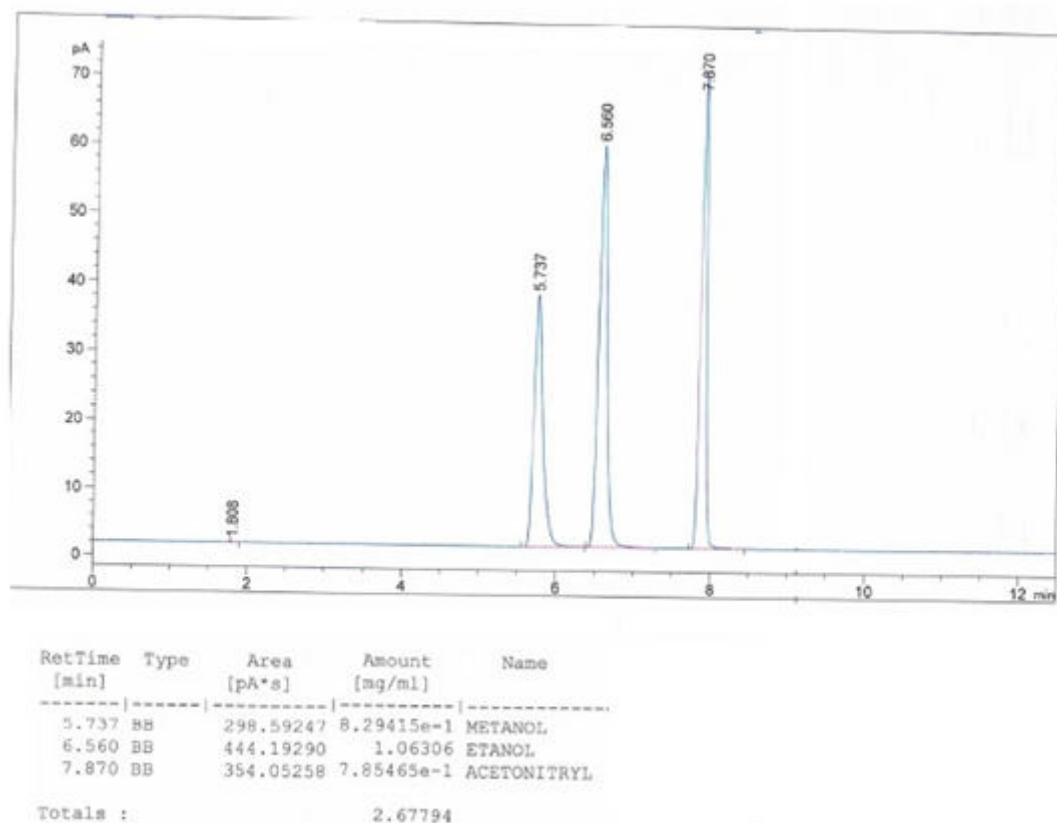


Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Area %
1	4,308	53681	8227	0,003691	mg/mL	32,214
2	4,651	83180	8704	0,005719	mg/mL	57,909
3	5,804	19393	2101	0,001333	mg/mL	9,877
Total		156254	19032	0,010743	mg/mL	100,000

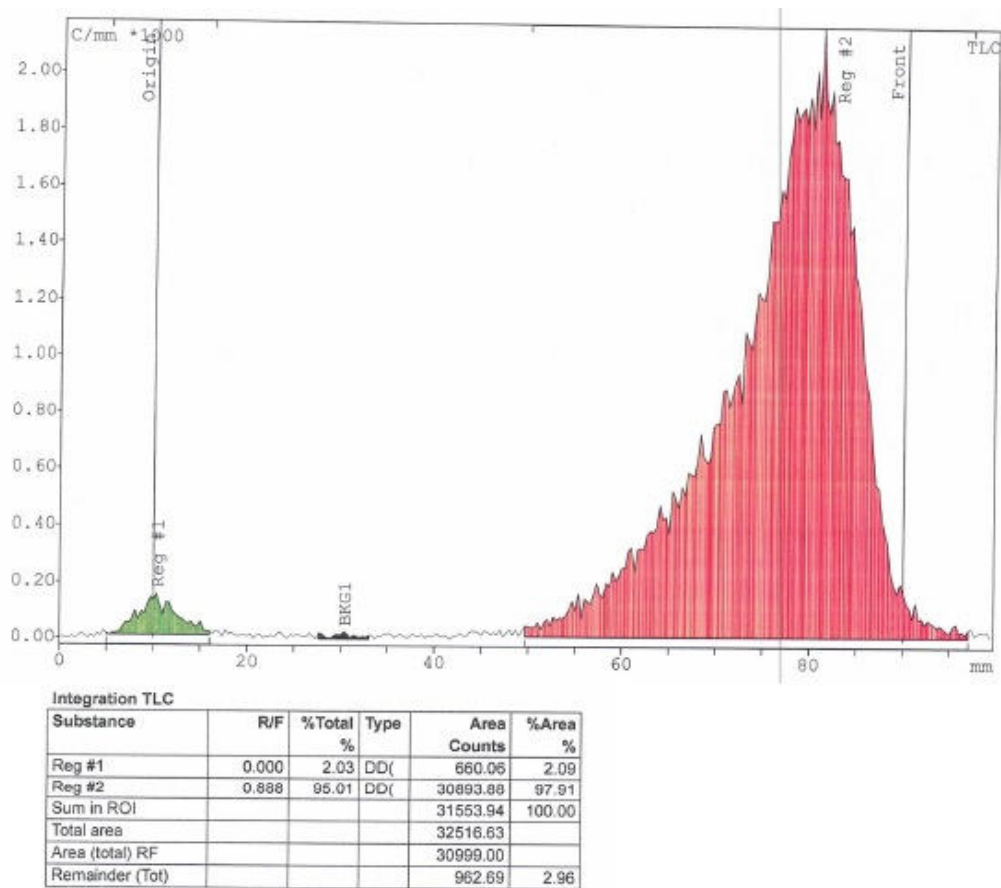
**Rycina 48.** Czystość chemiczna (HPLC) [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA.



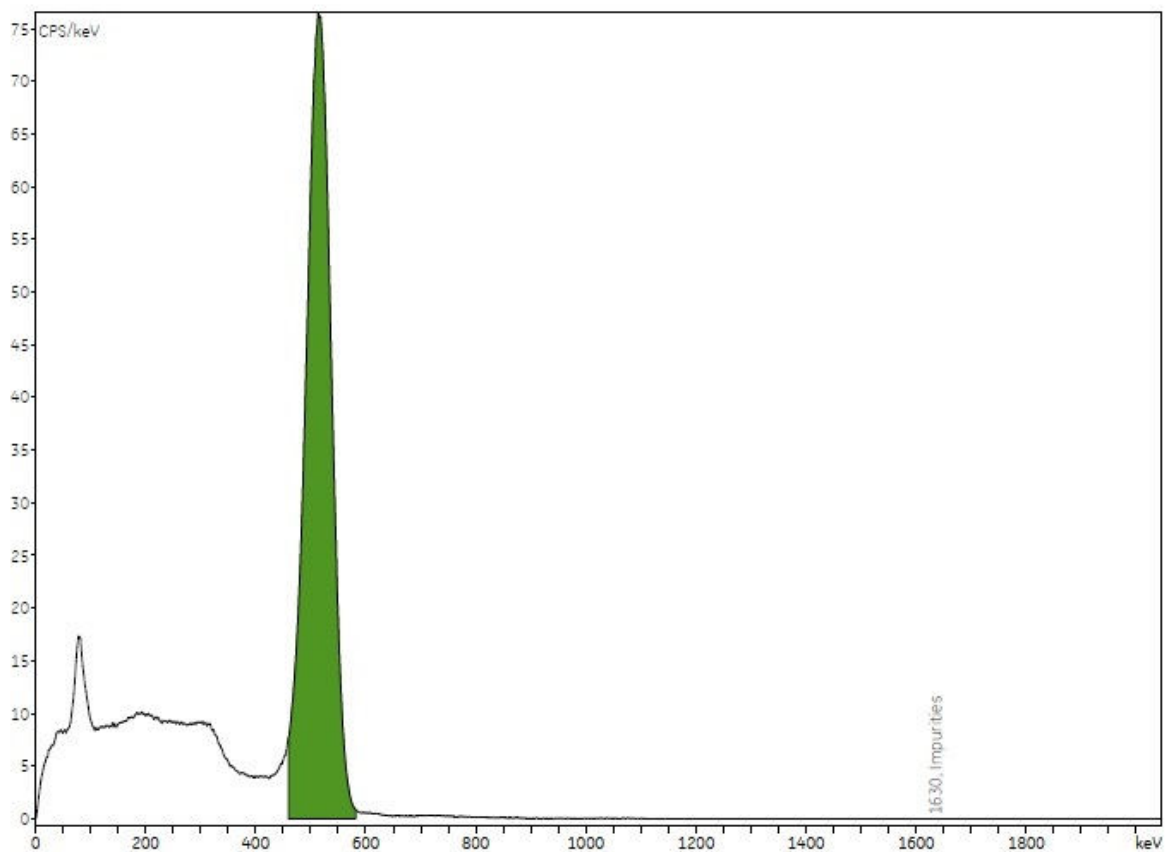
Rycina 49. Czystość enancjomeryczna (HPLC) [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA.



Rycina 50. Pozostałości rozpuszczalników (GC) [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA.



Rycina 51. Czystość radiochemiczna (TLC) [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA.



Integration SumTrace

Substance	R/T keV	Eff.Korr. CPS korr.CPS	%Area %	Activity in Bq
FDOPA	516,00	36621,4	99,989833	36621,4
Impurities	1630,0	14,5	0,010167	14,5
Area (total)	-	-	-	-

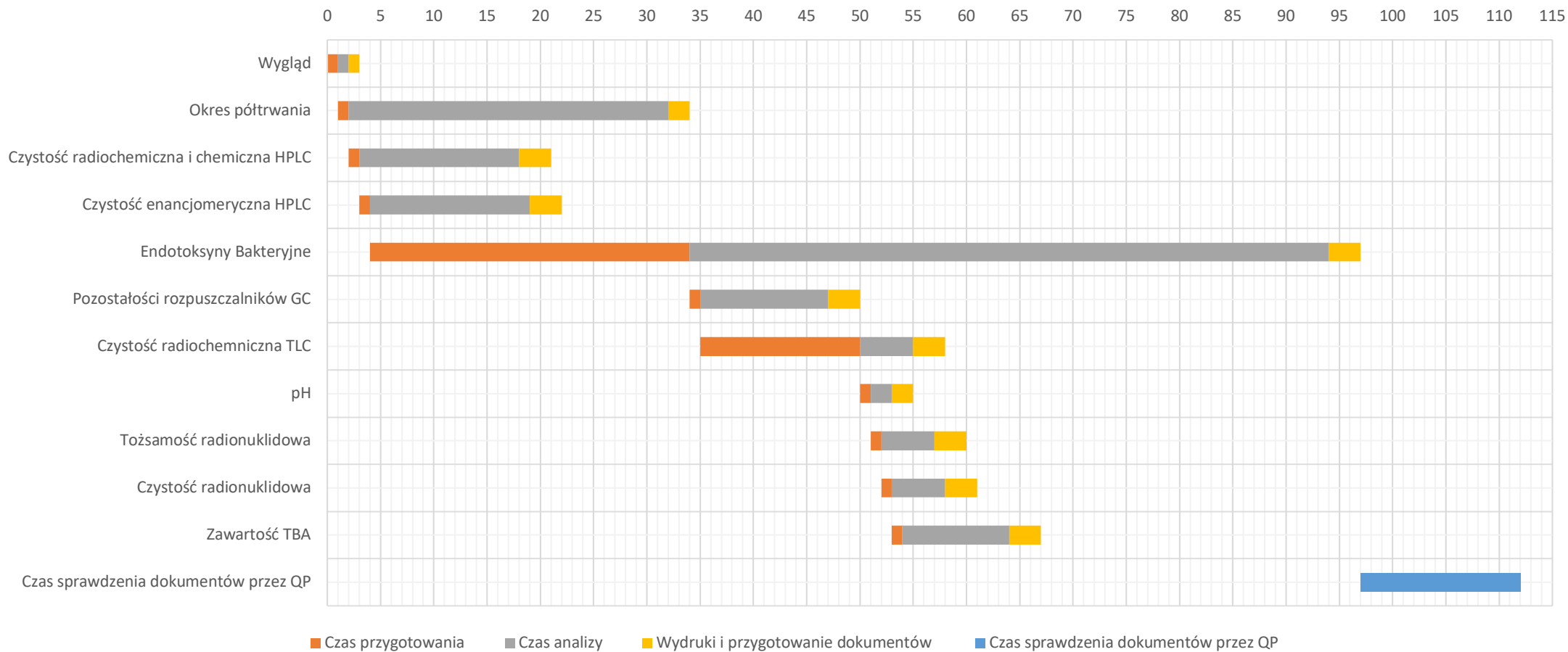
Rycina 52. Czystość i tożsamość radionuklidowa (MUCHA) [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA.





### QC [<sup>18</sup>F]F-DOPA metoda I LAL oraz GC

Czas (minuty)



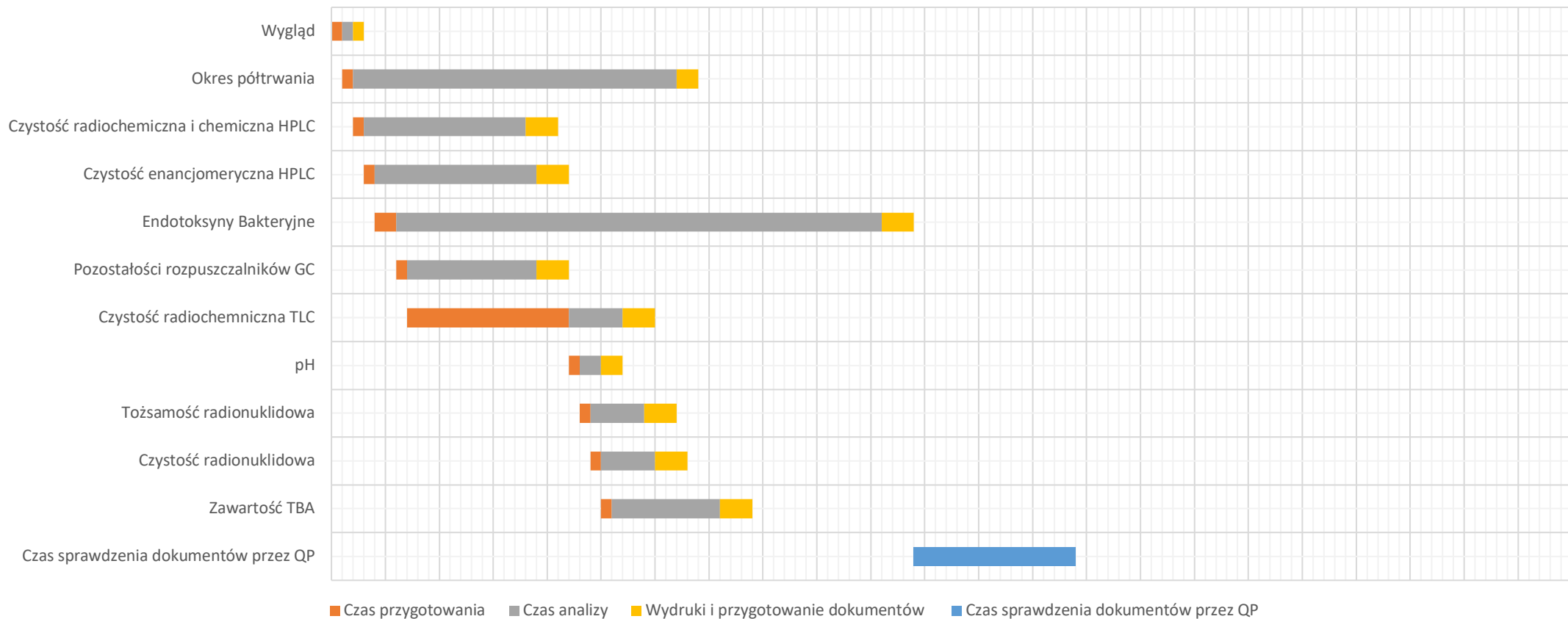
**Rycina 53.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody I oznaczania endotoksyn oraz GC dla [<sup>18</sup>F]F-DOPA.



### QC [<sup>18</sup>F]F-DOPA metoda II LAL oraz GC

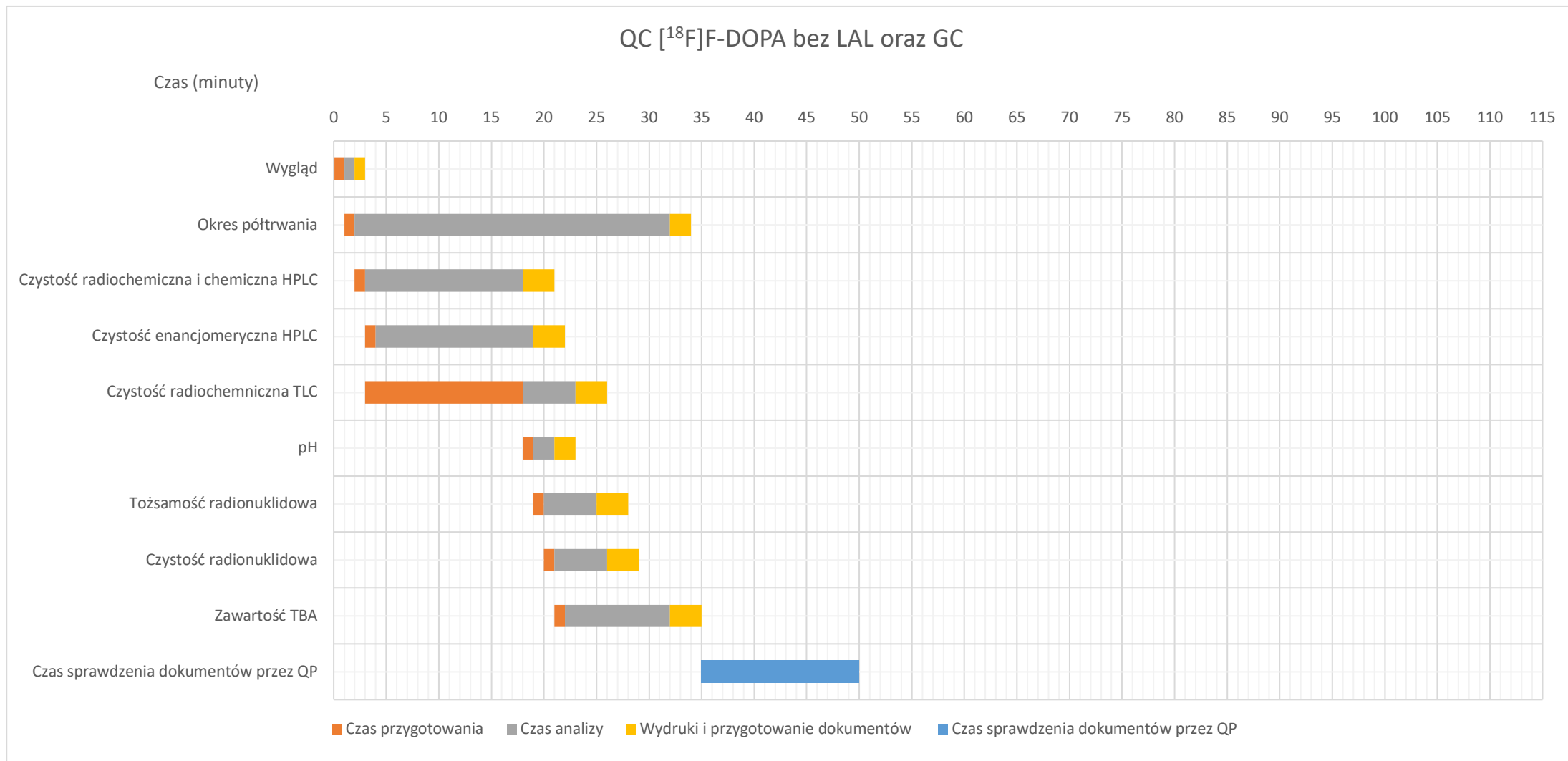
Czas (minuty)

0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115



**Rycina 54.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody II oznaczania endotoksyn oraz GC dla [<sup>18</sup>F]F-DOPA.



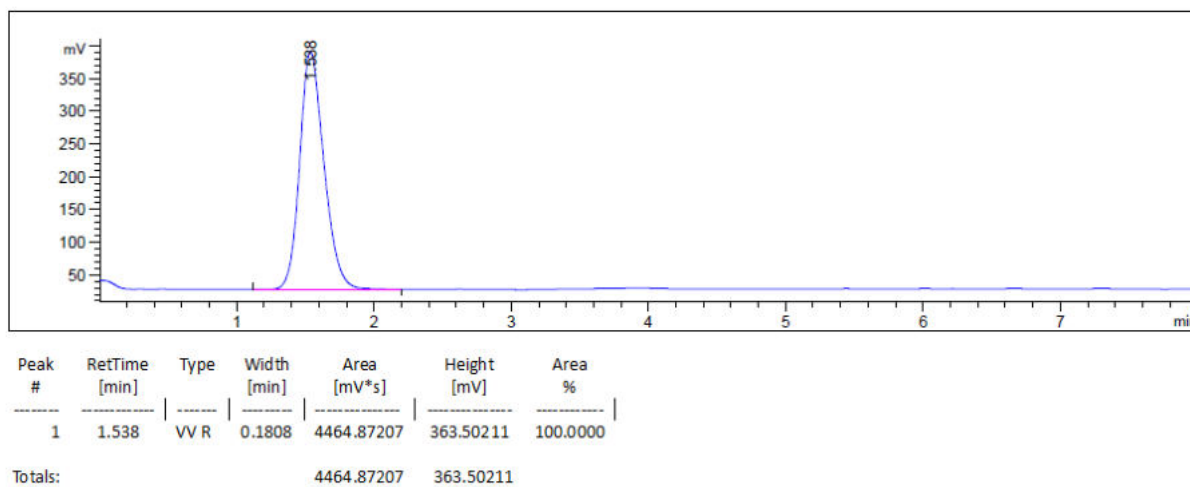


**Rycina 55.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości bez oznaczania endotoksyn oraz GC dla [<sup>18</sup>F]F-DOPA.

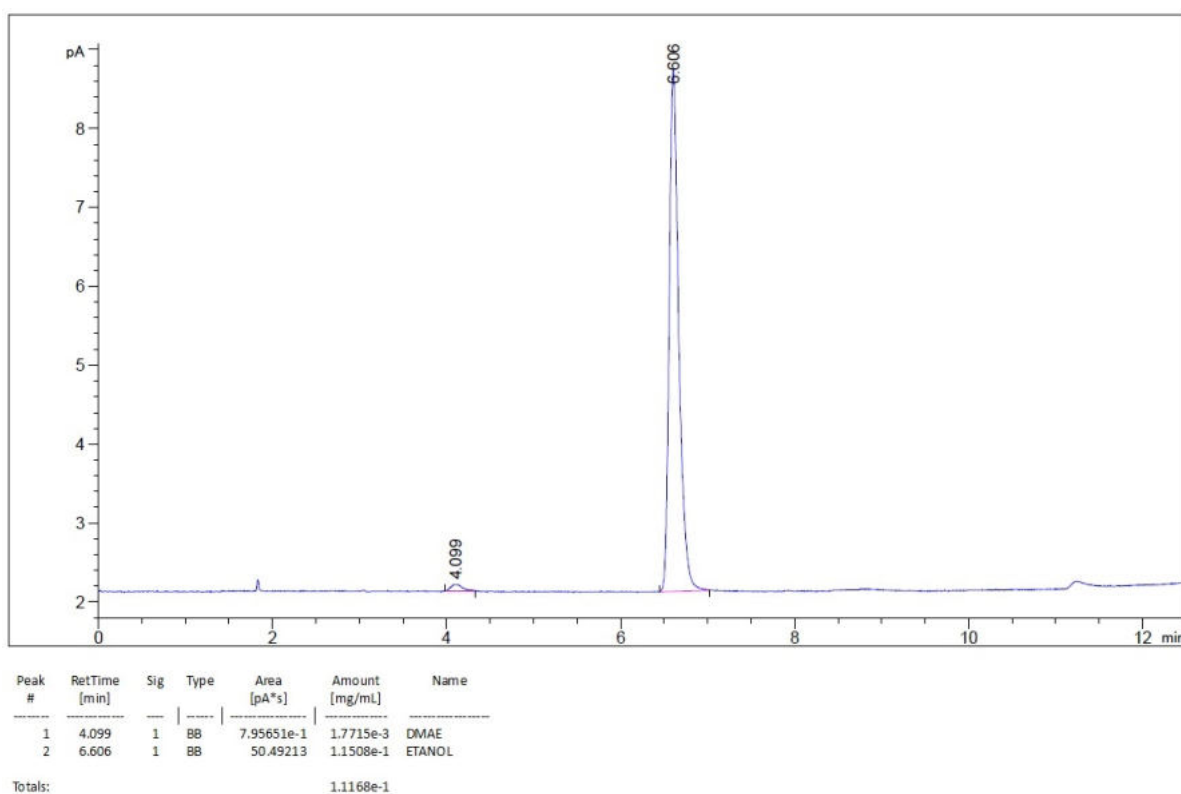


**Tabela 21.** Wyniki kontroli jakości dla ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.

Test Kontroli Jakości (QC)	Kryteria akceptacji	Wyniki testów Kontroli Jakości (QC)		
		QC 1	QC 2	QC 3
Wygląd	Przezroczysty, bezbarwny roztwór	Zgodny	Zgodny	Zgodny
Okres półtrwania	19.0–21.8 min	21.0	20.0	20.0
Czystość radiochemiczna (HPLC) ([ <sup>11</sup> C]-metyl)Cholina	≥95% całkowitej radioaktywności	100% (rycina 56)	100%	100%
Endotoksyny bakteryjne	<175 EU/5 mL (<35 EU/mL)	<0.375 EU/mL	<0.375 EU/mL	<0.375 EU/mL
Pozostałość etanolu (GC)	≤50 mg/5 mL (≤10 mg/mL)	0.1151 mg/mL (rycina 57)	0.1346 mg/mL	0.1270 mg/mL
Pozostałość DMAE (GC)	≤1 mg/5 mL (≤0.2 mg/mL)	0.0018 mg/mL (rycina 57)	0.0022 mg/mL	0.0000 mg/mL
pH	4.5–8.5	7.7	7.8	6.5
Tożsamość radionuklidowa	Fotony gamma o energii 497–526 keV	510 keV (rycina 58)	512 keV	514 keV
Czystość radionuklidowa (Badanie A)	Całkowita radioaktywność węgla -11 ≥99.9%	≥99.9% (rycina 58)	≥99.9%	≥99.9%
Test integralności filtra (Bubble point test)	≥3 Bar	4.0 Bar	4.2 Bar	4.2 Bar
Czystość radionuklidowa (Badanie B) Badanie po > 24h	Całkowita radioaktywność węgla -11 ≥99.9%	≥99.9%	≥99.9%	≥99.9%
Jałowość	Jałowy	Zgodny	Zgodny	Zgodny

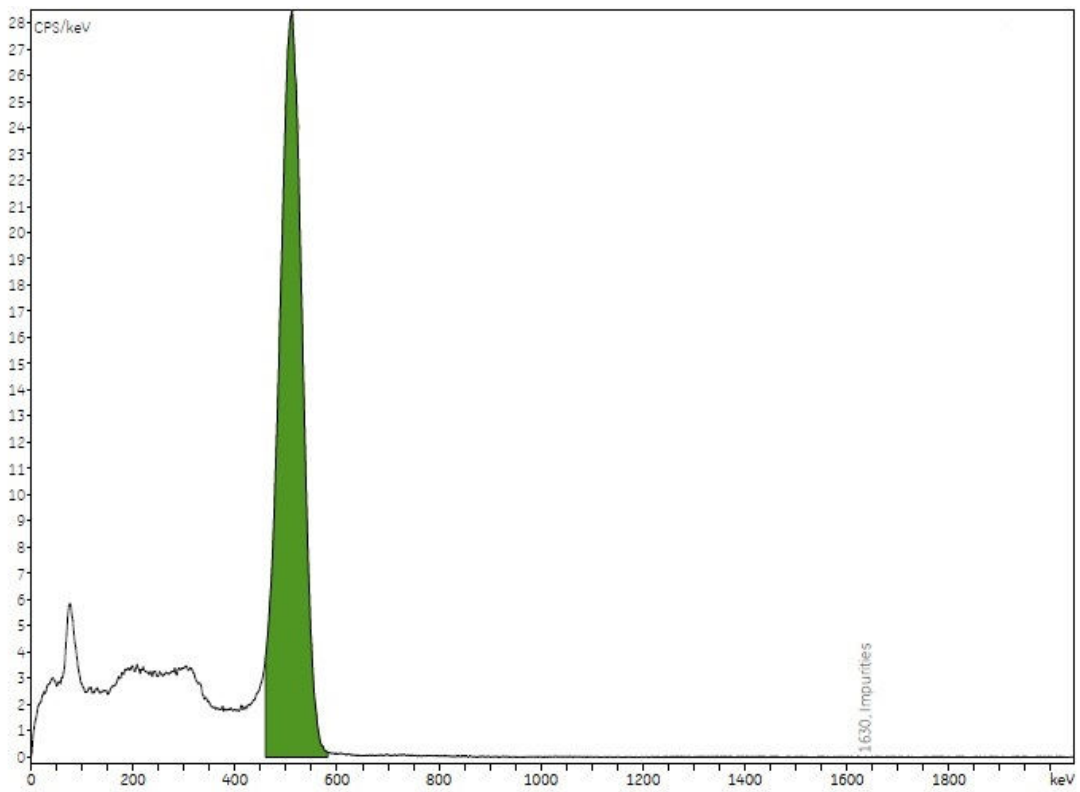


**Rycina 56.** Czystość radiochemiczna (HPLC) ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.



**Rycina 57.** Pozostałości rozpuszczalników (GC) ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.



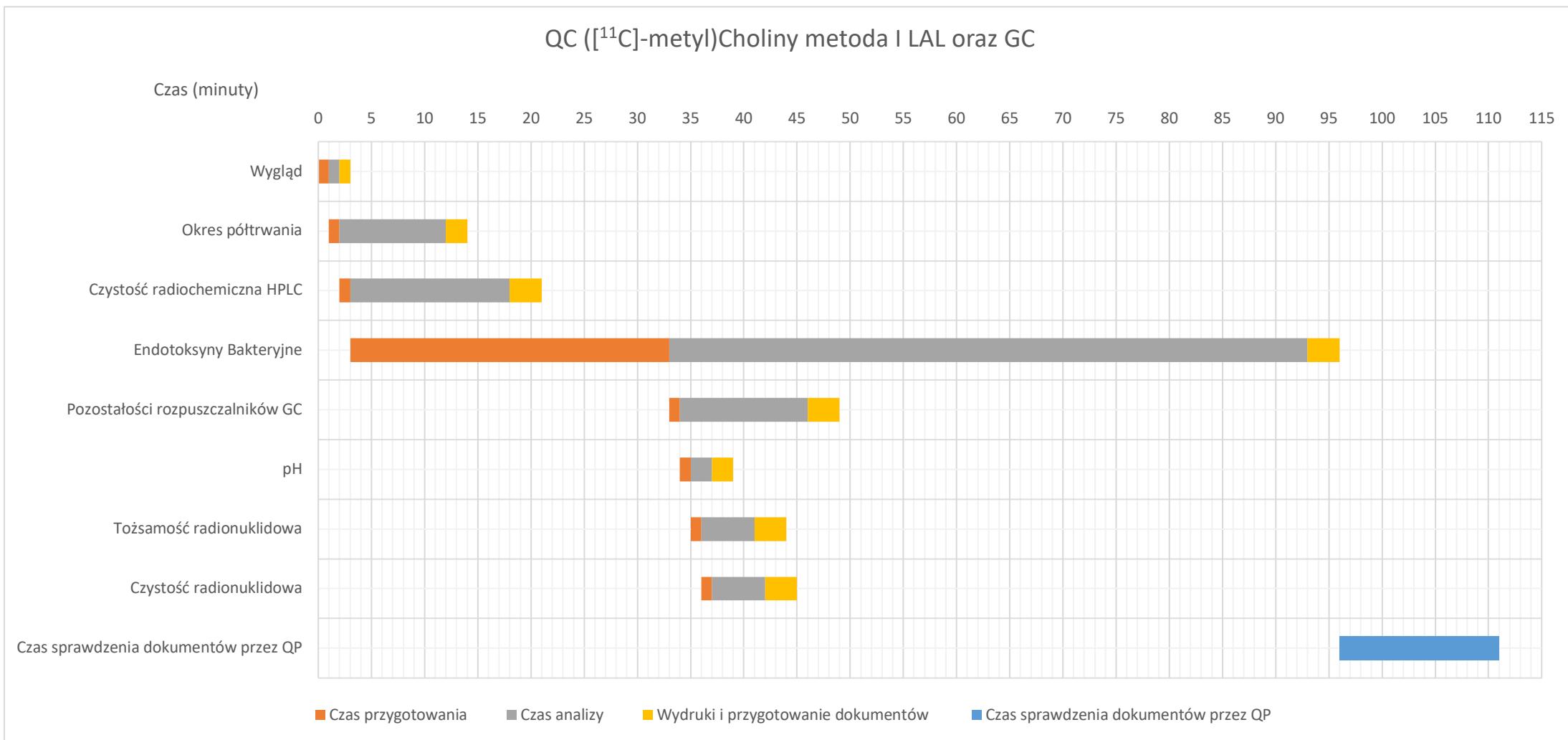


Integration SumTrace

Substance	R/T keV	Eff.Korr. CPS korr.CPS	%Area %	Activity in Bq Bq
Cholina	510,00	13203,0	99,992619	13203,0
Impurities	1630,0	3,8	0,007381	3,8
Area (total)	-	-	-	-

Rycina 58. Czystość i tożsamość radionuklidowa (MUCHA) ( $[^{11}\text{C}]$ -metyl)Cholina.





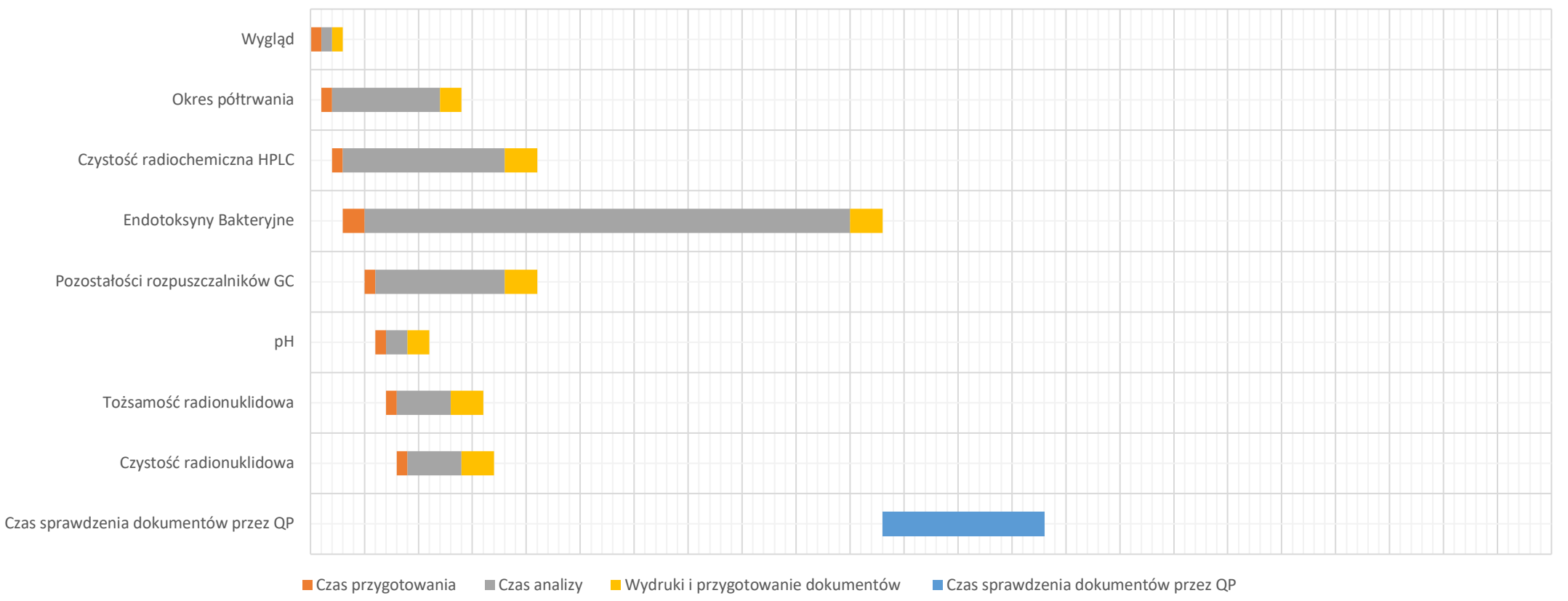
**Rycina 59.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody I oznaczania endotoksyn oraz GC dla ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.



### QC ([<sup>11</sup>C]-metyl)Choliny metoda II LAL oraz GC

Czas (minuty)

0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115



**Rycina 60.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody II oznaczania endotoksyn oraz GC dla ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.



### QC ([<sup>11</sup>C]-metyl)Choliny bez LAL oraz GC

Czas (minuty)

0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115

Wygląd

Okres półtrwania

Czystość radiochemiczna HPLC

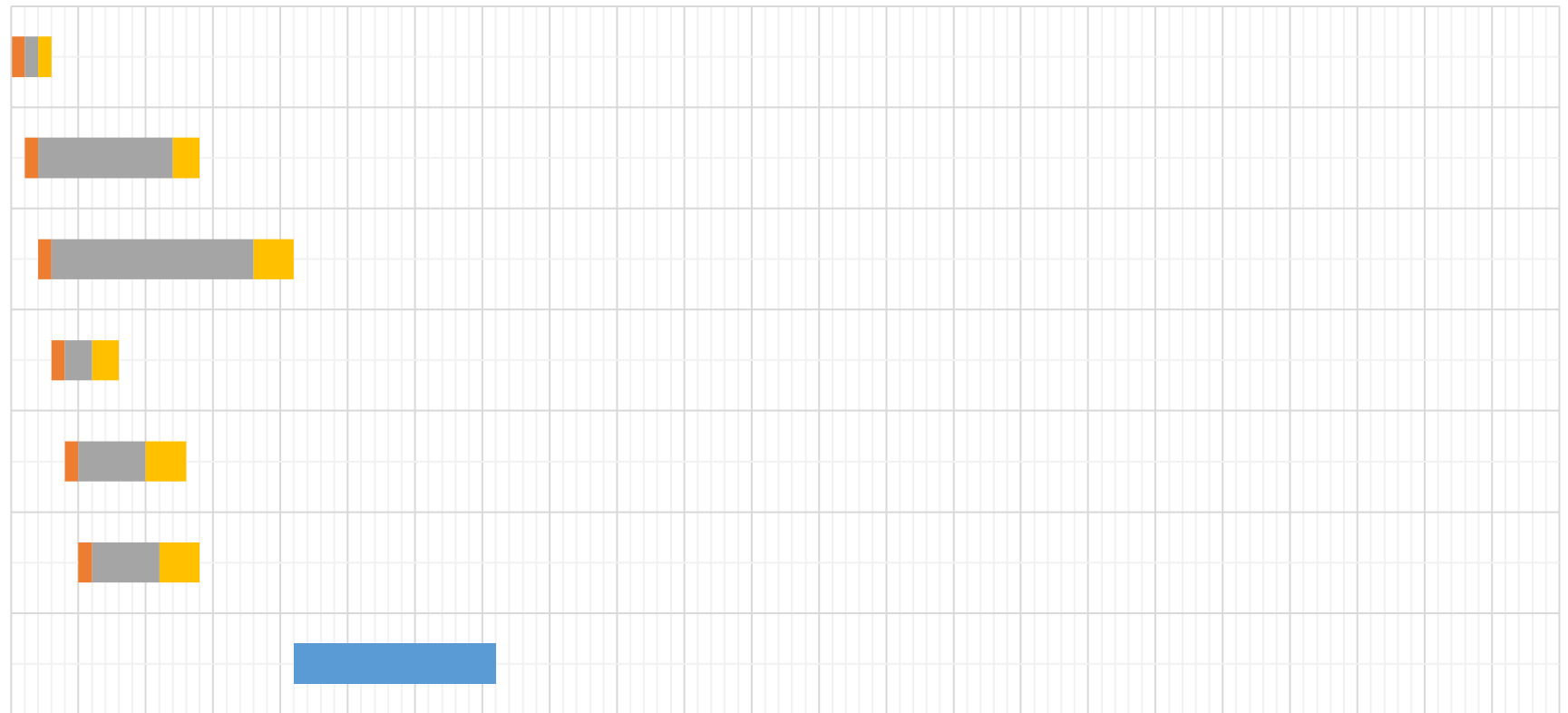
pH

Tożsamość radionuklidowa

Czystość radionuklidowa

Czas sprawdzenia dokumentów przez QP

■ Czas przygotowania ■ Czas analizy ■ Wydruki i przygotowanie dokumentów ■ Czas sprawdzenia dokumentów przez QP



**Rycina 61.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości bez oznaczania endotoksyn oraz GC dla ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.

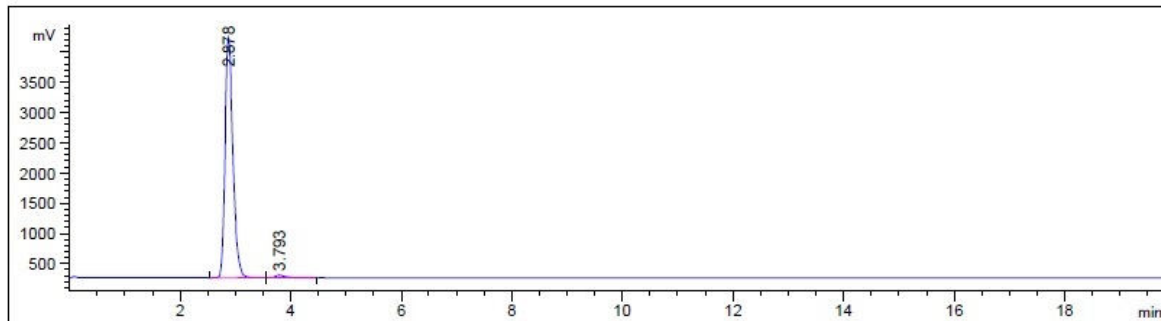




**Tabela 22.** Wyniki kontroli jakości dla [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.

Test Kontroli Jakości (QC)	Kryteria akceptacji	Wyniki testów Kontroli Jakości (QC)		
		QC 1	QC 2	QC 3
Wygląd	Przezroczysty, bezbarwny roztwór	Zgodny	Zgodny	Zgodny
Okres półtrwania	19.0–21.8 min	20.5	21.0	20.5
Czystość radiochemiczna (HPLC) [1- <sup>11</sup> C]Octan sodu	≥95% całkowitej radioaktywności	98.56% (rycina 62)	98.78%	99.04%
Czystość chemiczna (HPLC) Wszystkie zanieczyszczenia chemiczne	100 mg/5 mL (20 mg/mL)	0.0797 mg/mL (rycina 63)	0.0962 mg/mL	0.1630 mg/mL
W tym całkowita ilość Octan		0.0231 mg/mL (rycina 63)	0.0328 mg/mL	0.0733 mg/mL
Endotoksyny bakteryjne	<175 EU/5 mL (<35 EU/mL)	<0.375 EU/mL	<0.375 EU/mL	<0.375 EU/mL
Pozostałość etanol (GC)	≤50 mg/5 mL (≤10 mg/mL)	0,0656 mg/mL (rycina 64)	0,0280 mg/mL	0,0446 mg/mL
Pozostałość acetonitryl (GC)	≤ 4.1 mg/5 mL (≤ 0.82 mg/mL)	0,0015 mg/mL (rycina 64)	0.0020 mg/mL	0.0019 mg/mL
Pozostałość metanol (GC)	≤30 mg/5 mL (≤6 mg/mL)	0.0127 mg/mL (rycina 63)	0.0103 mg/mL	0.0081 mg/mL
Pozostałość eteru etylowego (GC)	≤50 mg/5 mL (≤10 mg/mL)	0.0064 mg/mL (rycina 64)	0.0172 mg/mL	0.0066 mg/mL
pH	4.5–8.5	7.7	7.8	6.5

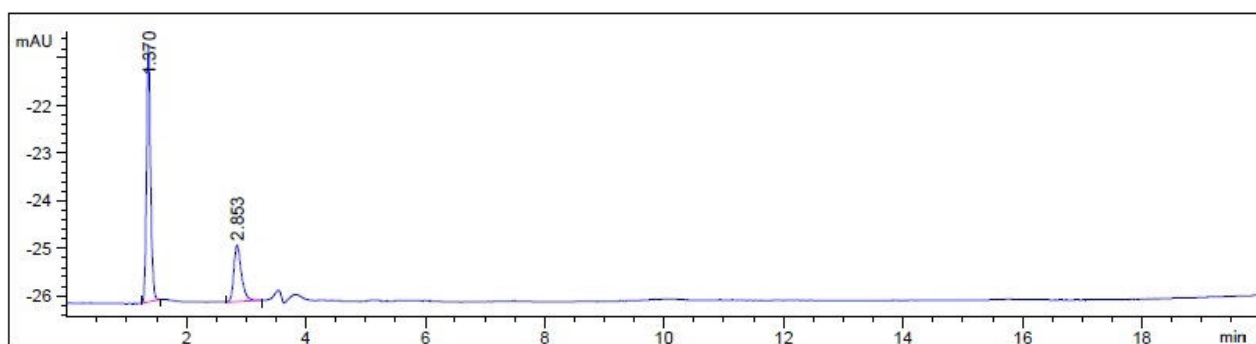
<b>Tożsamość radionuklidowa</b>	Fotony gamma o energii 497–526 keV	516 keV (rycina 65)	514 keV	516 keV
<b>Czystość radionuklidowa (Badanie A)</b>	Fotony gamma o energii 511 keV lub 1022 keV ≥99.9%	≥99.9% (rycina 65)	≥99.9%	≥99.9%
<b>Test integralności filtra (Bubble point test)</b>	≥3 Bar	4.2 Bar	4.0 Bar	4.0 Bar
<b>Czystość radionuklidowa (Badanie B) Badanie po &gt; 24h</b>	Całkowita radioaktywność węgla -11 ≥99.9%	≥99.9%	≥99.9%	≥99.9%
<b>Jałowość</b>	Jałowy	Zgodny	Zgodny	Zgodny



Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mV*s]	Height [mV]	Area %
1	2.878	BB	0.1526	3.91113e4	3964.22974	98.5618
2	3.793	BB R	0.1996	570.68726	41.70389	1.4382

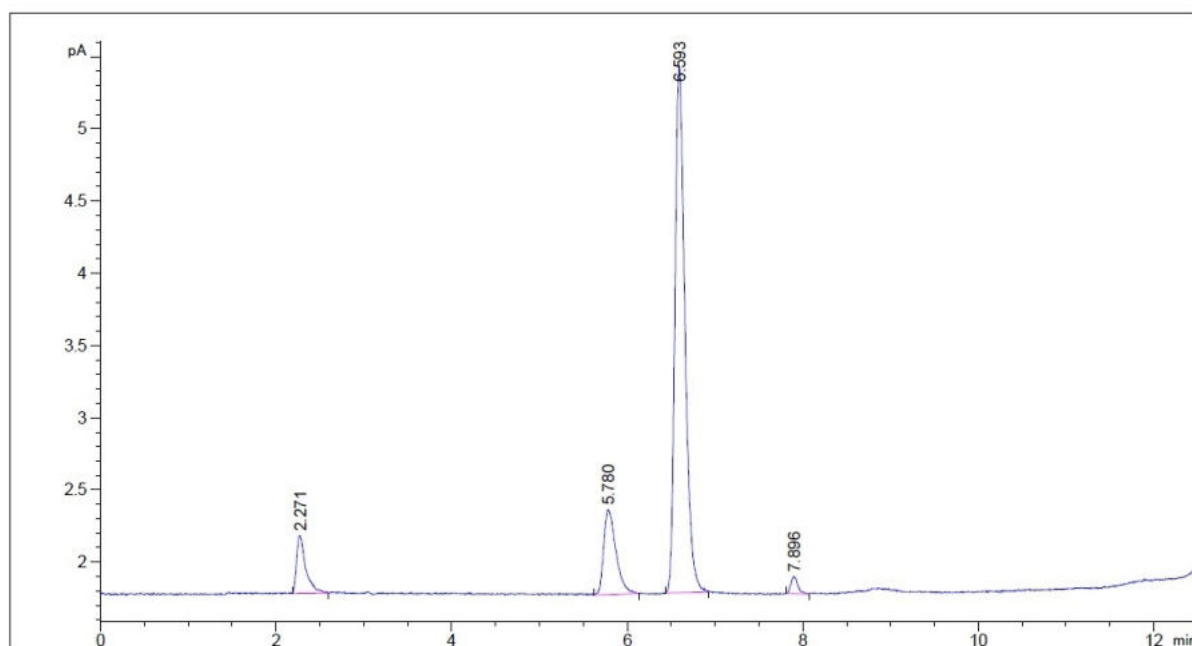
Totals: 3.96820e4 4005.93363

**Rycina 62.** Czystość radiochemiczna (HPLC) [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.



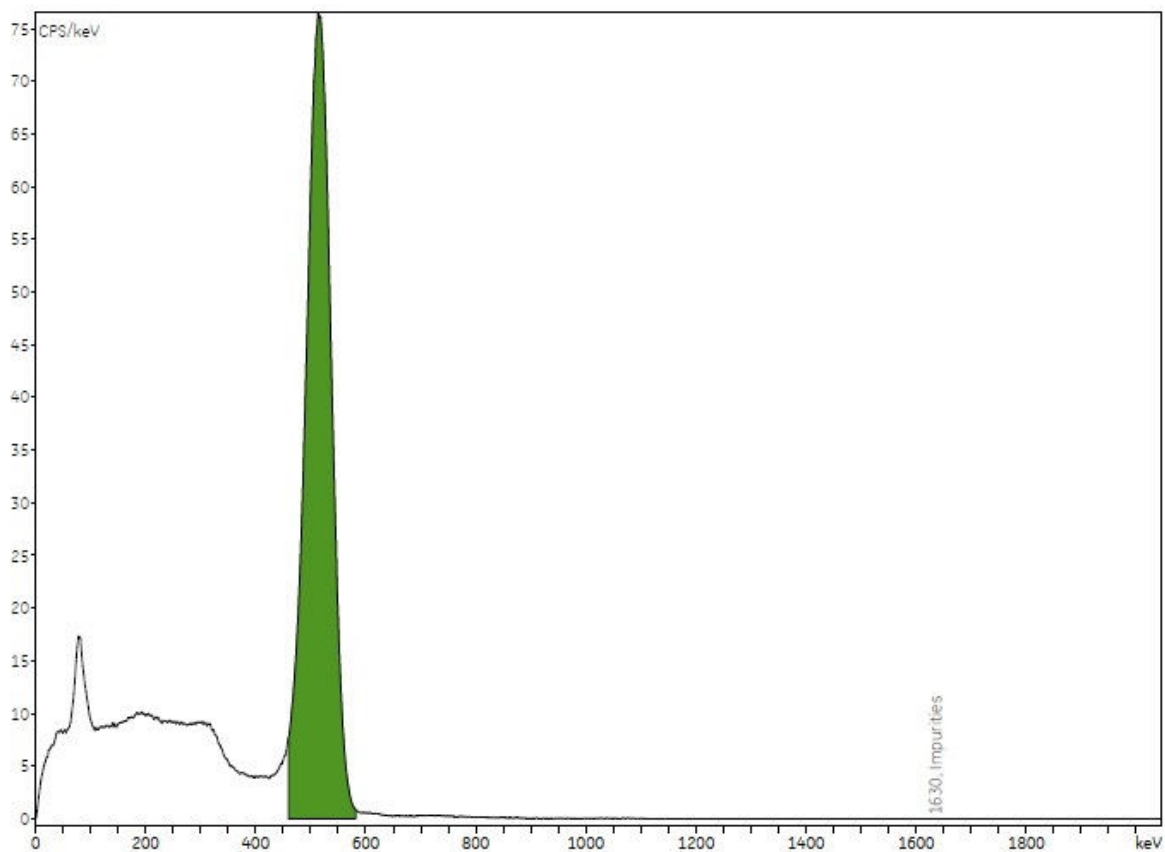
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mV*s]	Height [mV]	Area %	Conc. mg/mL
1	1.370	BB	0.0706	25.39077	5.42943	71.0780	0.565
2	2.853	BB	0.1318	10.33163	1.18396	28.9220	0.231
Totals:				35.72240	6.61339		0.0797

**Rycina 63.** Czystość chemiczna (HPLC) [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodiu.



Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Amount [mg/mL]	Name
1	2.271	1	BB	2.87935	6.4109e-3	ETER
2	5.780	1	BB	5.67194	1.2693e-2	METANOL
3	6.593	1	BB	28.77893	6.5593e-2	ETANOL
4	7.896	1	BB	6.48307e-1	1.4769e-3	ACETONITRYL
Totals:					8.6174e-2	

**Rycina 64.** Pozostałości rozpuszczalników (GC) [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodiu.

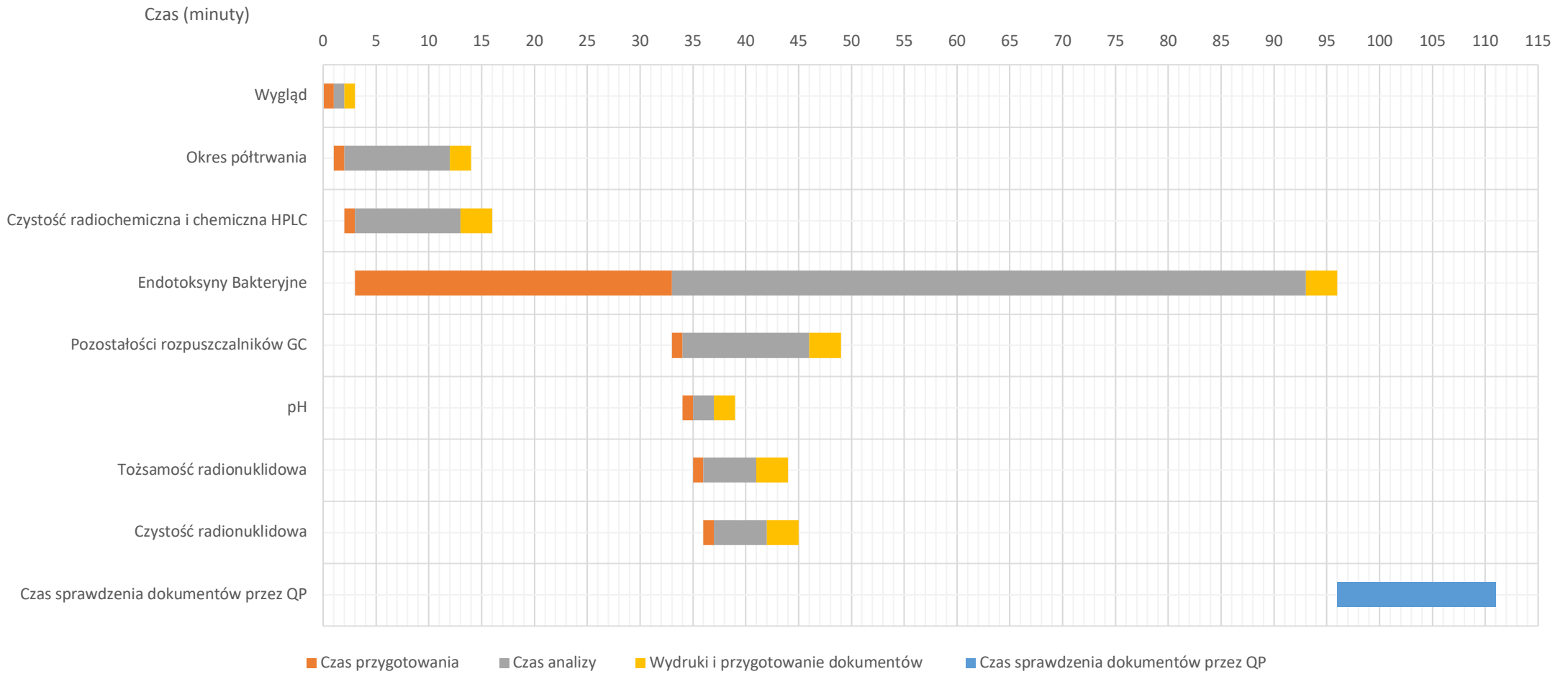


Integration SumTrace

Substance	R/T keV	Eff.Korr. CPS korr.CPS	%Area %	Activity in Bq Bq
Octan	516,00	36621,4	99,989833	36621,4
Impurities	1630,0	14,5	0,010167	14,5
Area (total)	-	-	-	-

Rycina 65. Tożsamość i czystość radionuklidowa (MUCHA) [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.

### QC ([1-<sup>11</sup>C]Octanu Sodu metoda I LAL oraz GC

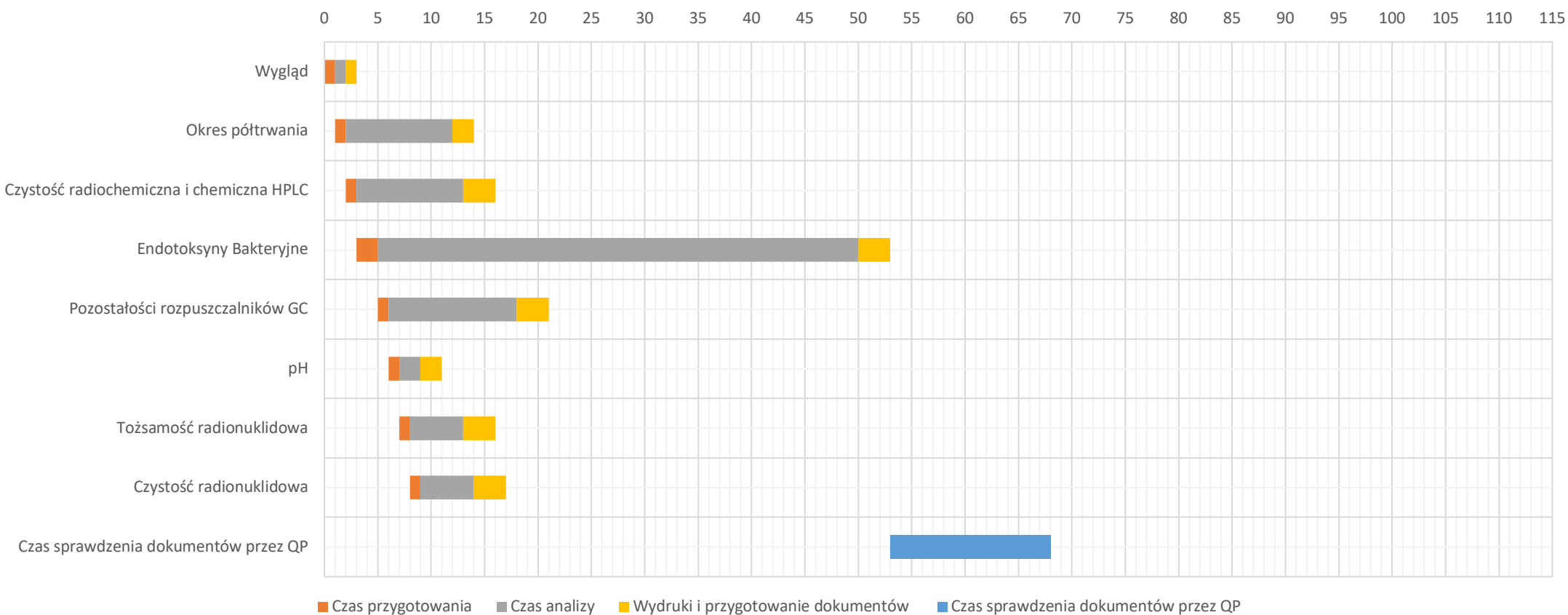


**Rycina 66.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody I oznaczania endotoksyn oraz GC dla [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.



### QC [ $1-^{11}\text{C}$ ]Octanu Sodu metoda II LAL oraz GC

Czas (minuty)



**Rycina 67.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody II oznaczania endotoksyn oraz GC dla [ $1-^{11}\text{C}$ ]Octan Sodu.

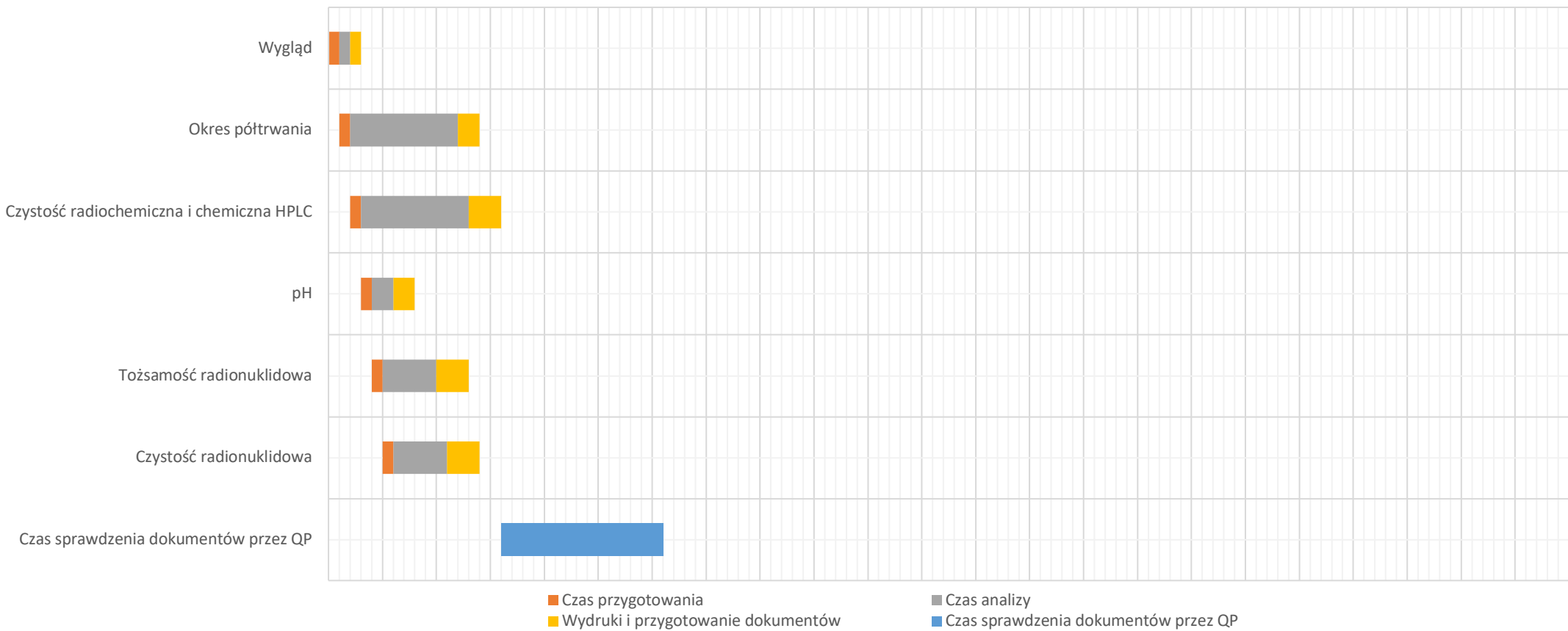




### QC [ $1-^{11}\text{C}$ ]Octanu Sodru bez LAL oraz GC

Czas (minuty)

0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115



**Rycina 68.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości bez oznaczania endotoksyn oraz GC dla [ $1-^{11}\text{C}$ ]Octan Sodru.



## 5.7. Całkowity czas oraz spadek aktywności w trakcie przygotowania wybranych radiofarmaceutyków

Zestawiono czynności potrzebne na wykonanie rozlewu na różnych typach dyspenserów oraz kontroli jakości w różnych konfiguracjach opisanych w rozdziałach 5.5. oraz 5.6. Wyjściowymi aktywnościami, od których rozpoczęto obliczenia były maksymalne wydajności radiochemiczne RCY uzyskane na etapie modyfikacji i optymalizacji procesu syntezy (rozdziały 5.1. – 5.4):

- [<sup>18</sup>F]FDG: RCY = 60 – 70%, aktywność na początek etapu: 60 000 MBq,
- [<sup>18</sup>F]F-DOPA: RCY = 10 - 15%, aktywność na początek etapu: 7 000 MBq,
- ([<sup>11</sup>C]- metyl) Cholina: RCY = 75- 80%, aktywność na początek etapu: 20 000 MBq,
- [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodiu: RCY = 60 – 65%, aktywność na początek etapu: 20 000 MBq.

Na podstawie czasu połowicznego rozpadu danego izotopu oraz strat na fiołki poboczne, wyliczono spadek aktywności oraz procentowy spadek aktywności dla każdego etapu. Z otrzymanej wartości końcowej obliczono ilość pacjentów, którym może zostać wykonane badanie PET w ośrodku posiadającym jeden skaner lub dwa skanery PET. Wartości aktywności i czas potrzebny na badanie danym radiofarmaceutykiem, zastosowano z wykazu wzorcowych procedur radiologicznych z zakresu medycyny nuklearnej [113]. Aktywność potrzebną na badanie wyliczono dla osoby o wadze 70 kg. Na potrzeby obliczeń wybrano najwyższe wartości aktywności wybranych radiofarmaceutyków, potrzebne do wykonania badania PET według wykazu wzorcowych procedur radiologicznych z zakresu medycyny nuklearnej:

- [<sup>18</sup>F]FDG: 5 – 7 MBq/kg, 350 – 490 MBq, wartość do obliczeń 490 MBq, czas potrzebny na badanie 25 minut,
- [<sup>18</sup>F]F-DOPA: 4 MBq/kg, 280 MBq, wartość do obliczeń 280 MBq, czas potrzebny na badanie 25 minut,
- ([<sup>11</sup>C]- metyl) Cholina: 3,5 - 5 MBq/kg, 245 - 350 MBq, wartość do obliczeń 350 MBq, czas potrzebny na badanie 25 minut,
- [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodiu: 8 - 17 MBq/kg, 490 - 1190 MBq, wartość do obliczeń 1190 MBq, czas potrzebny na badanie 25 minut.

Pierwszymi etapami wpływającym na utratę aktywności stanowiło przygotowanie rozcieńczenia oraz czas potrzebny na rozlew radiofarmaceutyku na danym typie urządzenia. Spadek aktywności dla tych etapów dla dyspenserów Clio i Theodorico wyniósł:

Przygotowanie rozcieńczenia:

- [<sup>18</sup>F]FDG 2 minuty dla Theodorio i 6 minut dla Clio (fiolki i strzykawki), co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 1,26 do 3,73% (ryciny 69 - 71),
- [<sup>18</sup>F]F-DOPA 2 minuty dla Theodorio i 6 minut dla Clio (fiolki i strzykawki), co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 1,26 do 3,73% (ryciny 73 - 75),
- ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina 2 minuty dla Theodorio i 6 minut dla Clio (fiolki i strzykawki), co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 6,54 do 18,36% (ryciny 77 - 79),
- [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodu 2 minuty dla Theodorio i 6 minut dla Clio (fiolki i strzykawki), co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 6,54 do 18,36% (ryciny 81 - 83).

Rozlew:

- [<sup>18</sup>F]FDG 12 minut dla Theodorio, 14 minut dla Clio (strzykawki) i 20 minut dla Clio (fiolki), co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 7,31 do 11,89 % (ryciny 69 - 71),
- [<sup>18</sup>F]F-DOPA 12 minut dla Theodorio, 14 minut dla Clio (strzykawki) i 20 minut dla Clio (fiolki), co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 7,31 do 11,89 % (ryciny 73 - 75),
- ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina 12 minut dla Theodorio, 14 minut dla Clio (strzykawki) i 20 minut dla Clio (fiolki), co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 33,35 do 49,15 % (ryciny 77 - 79),
- [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodu 12 minut dla Theodorio, 14 minut dla Clio (strzykawki) i 20 minut dla Clio (fiolki), co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 33,35 do 49,15 % (ryciny 81 - 83).

Spadek aktywności dla dyspensera Althea wyniósł:

Przygotowanie rozcieńczenia:

- [<sup>18</sup>F]FDG 2 minuty, co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 1,26 % (rycina 72),
- [<sup>18</sup>F]F-DOPA 2 minuty, co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 1,26 % (rycina 76),
- ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina 2 minuty, co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 6,54 % (rycina 80),
- [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodu 2 minuty, co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 6,54 % (rycina 84).

Rozlew:

- [<sup>18</sup>F]FDG 10 minut, co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 6,13 % (ryciny 72),
- [<sup>18</sup>F]F-DOPA 10 minut, co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 6,13 % (ryciny 76),
- ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina 10 minut, co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 28,69 % (ryciny 80),
- [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodu 10 minut, co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 28,69 % (ryciny 84).

Czas przygotowania koncentracji oraz rozlewu są etapami niezbędnymi do wykonania. Przyglądając się tym etapom zauważono, że nie miały one dużego wpływu na utratę aktywności dla znaczników fluorowych <sup>18</sup>F. Wpływ ten był zauważalny w przypadku znaczników węglowych <sup>11</sup>C, ponieważ generował straty na poziomie 49,15%, w przypadku użycia dyspenserów Clio i Theodorico. Poprawa szybkości rozlewu na dyspenserze Althea obniżyła straty aktywności o 20,46 %.

Drugim etapem generującym straty aktywności było pobranie aktywności na potrzeby fiolek/strzykawek pobocznych (fiolki/strzykawki 1-6, rozdział 4.7) przy użyciu dyspenserów Clio i Theodorico. Aktywność była zależna od koncentracji danego radiofarmaceutyku i wyniosła dla:

- [<sup>18</sup>F]FDG 33000 MBq, co stanowi procentowy spadek aktywności tego etapu na poziomie 60,1 – 64,84% (ryciny 69 -71),
- [<sup>18</sup>F]F-DOPA 3300 MBq, co stanowi procentowy spadek aktywności tego etapu na poziomie 51,51 – 55,58% (ryciny 73 -75),
- ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina 7700 MBq, co stanowi procentowy spadek aktywności tego etapu na poziomie 61,81 – 92,74% (ryciny 77 -79),
- [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodu 7700 MBq, co stanowi procentowy spadek aktywności tego etapu na poziomie 61,81 – 92,74% (ryciny 81 -83).

W przypadku dyspensera Althea spadki te były mniejsze i wyniosły dla:

- [<sup>18</sup>F]FDG 2940 MBq, co stanowi procentowy spadek aktywności tego etapu na poziomie 5,29% (rycina 72),
- [<sup>18</sup>F]F-DOPA 1680 MBq, co stanowi procentowy spadek aktywności tego etapu na poziomie 25,89% (rycina 76),
- ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina 1785 MBq, co stanowi procentowy spadek aktywności tego etapu na poziomie 13,39% (rycina 80),
- [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodu 7140 MBq, co stanowi procentowy spadek aktywności tego etapu na poziomie 53,56% (rycina 84).

Różnica pomiędzy rozlewem na dyspenserach Clio i Theodorico, a Althea była taka, że w przypadku dyspensera Althea pobrana aktywność pochodząca z bulk, stanowiła najwyższą wartość wybranego radiofarmaceutyku potrzebną do wykonania badania PET według Wykazu wzorcowych procedur radiologicznych z zakresu medycyny nuklearnej i została rozcieńczona do 5 mL dla każdej strzykawki pobocznej. Fiolki/strzykawki poboczne rozlane przy użyciu dyspenserów Clio i Theodorico zostały wypełnione stężoną aktywnością, co spowodowało, że aktywność we fiolkach była różna i zależała od koncentracji danego radiofarmaceutyku oraz zadanej objętości dla fiolki/strzykawki. Nie należy poddawać wątpliwości wytworzenia fiolek/strzykawek pobocznych. Są one istotne z punktu wykonania wszystkich potrzebnych badań fizykochemicznych, biologicznych oraz archiwizacji próbki wyprodukowanego preparatu. Należy jednak rozważyć czy w przypadku radiofarmaceutyków do badań można użyć radiofarmaceutyku stężonego czy w postaci dawki jaką otrzyma pacjent. Biorąc do badań stężony produkt o dużej aktywności pojawiają się problemy w postaci przeładowania detektora radiometrycznego znajdującego się w urządzeniach kontroli jakości

i przekroczenia granicy oznaczalności danej próbki. W takich przypadkach stężony produkt należy rozcieńczyć do wartości, przy której nie nastąpi przeładowanie detektora.

Problemem, który też może się pojawiać z preparatem o wysokiej aktywności, jest brak tworzenia się żelu w przypadku badania endotoksyn, który w preparatach rozcieńczonych nie pojawia się [115].

Duże aktywności przekazane do laboratorium kontroli jakości generują problemy związane z ochroną radiologiczną wymaganą przez Prawo Atomowe [85]. Większość urzędów w kontroli jakości nie są przystosowane dla radiofarmacji i nie zawierają odpowiednich osłon chroniących przed promieniowaniem. Powoduje to narażenie pracownika laboratorium na przyjęcie wysokich dawek promieniowania.

Zastosowanie mniejszych dawek w postaci przekazania aktywności do kontroli jakości na poziomie dawki dla pacjenta, jak miało miejsce to w przypadku rozlewu na dyspenserze Althea, jest w stanie rozwiązać powyższe problemy.

Porównując stratę aktywności na dyspenserach Clio i Theodorico, gdzie na fiolki poboczne pobrano aktywność skoncentrowaną, a dyspenserem Althea, gdzie pobrano aktywność w postaci dawki dla pacjenta, dodatkowym plusem tego rozwiązania jest oszczędność aktywności i możliwości przeznaczenia jej na dawki dla pacjenta.

Oszczędność w przeliczeniu na dodatkową aktywność na badania wyniosłaby w przypadku:

- [ $^{18}\text{F}$ ]FDG pozwala na przeznaczenie 30060 MBq na wykonanie dodatkowych badań PET,
- [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA pozwala na przeznaczenie 1620 MBq na wykonanie dodatkowych badań PET,
- ([ $^{11}\text{C}$ ]-metyl)Cholina pozwala na przeznaczenie 5915 MBq na wykonanie dodatkowych badań PET,
- [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ] Octan Sodu pozwala na przeznaczenie 560 MBq na wykonanie dodatkowych badań PET.

Przy czym należy zwrócić uwagę na to, że w przypadku [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ] Octan Sodu, jedynie wykonanie rozlewu na dyspenserze Althea pozwala na zachowanie aktywności, która umożliwi wykonanie pojedynczego badania.

Kolejnym etapem generującym wysokie straty aktywności, był czas potrzebny na kontrole jakości, gdzie w zależności od konfiguracji wynosił on:

- [<sup>18</sup>F]FDG od 49 do 111 minut, co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 26,67 do 50,47% w zależności od konfiguracji (ryciny 69 - 72),
- [<sup>18</sup>F]F-DOPA od 50 do 112 minut, co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 27,13 do 50,79% w zależności od konfiguracji (ryciny 73 - 76),
- ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina od 36 do 111 minut, co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 70,40 do 97,66% w zależności od konfiguracji (ryciny 77 - 80),
- [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodu od 31 do 111 minut, co wygenerowało procentowy spadek aktywności na poziomie 64,94 do 97,66 % w zależności od konfiguracji (Ryciny 81-84).

Najbardziej korzystną konfiguracją dotyczącą testów kontroli jakości było, zgodnie z założeniami farmakopei, wykonanie oznaczania endotoksyn oraz pozostałości rozpuszczalników po zwolnieniu produktu do zastosowania. Porównując najbardziej korzystną konfigurację z pozostałymi dwiema dla poszczególnych rozlewów radiofarmaceutyków, widać wyraźne różnice w możliwości uzyskania dodatkowej aktywności na dawki dla pacjentów:

- [<sup>18</sup>F]FDG
  - metoda bez LAL i GC do metoda I LAL i GC pozwala na przeznaczenie 23,8% dodatkowej aktywności na badania PET,
  - metoda bez LAL i GC do metoda II LAL i GC pozwala na przeznaczenie 8,31% dodatkowej aktywności na badania PET,
- [<sup>18</sup>F]F-DOPA
  - metoda bez LAL i GC do metoda I LAL i GC pozwala na przeznaczenie 23,66% dodatkowej aktywności na badania PET,
  - metoda bez LAL i GC do metoda II LAL i GC pozwala na przeznaczenie 8,26% dodatkowej aktywności na badania PET,
- ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina
  - metoda bez LAL i GC do metoda I LAL i GC pozwala na przeznaczenie 27,26% dodatkowej aktywności na badania PET,
  - metoda bez LAL i GC do metoda II LAL i GC pozwala na przeznaczenie 19,57% dodatkowej aktywności na badania PET,
- [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodu



- metoda bez LAL i GC do metoda I LAL i GC pozwala na przeznaczenie 32,72% dodatkowej aktywności na badania PET,
- metoda bez LAL i GC do metoda II LAL i GC pozwala na przeznaczenie 25,03% dodatkowej aktywności na badania PET.

Należy jednak zauważyć, że w przypadku [ $1-^{11}\text{C}$ ] Octan Sodiu, jedynie konfiguracja bez testów LAL i GC w rozlewie na dyspenserze Althea pozwala na zakończenie wszystkich etapów z aktywnością na tyle wysoką, aby można było wykonać przynajmniej jedno badanie PET. Przeprowadzenie wymaganych badań QC jest kłopotliwe i czasochłonne oraz wymaga szeregu urządzeń chemii analitycznej i znacznej przestrzeni laboratoryjnej. Należy pamiętać, że ośrodek wykonujący testy kontroli jakości niektórych radiofarmaceutyków musi posiadać kilka takich samych urządzeń. Przykładowo QC [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA musi mieć wykonane trzy testy kontroli jakości wymagające zastosowania HPLC. Ośrodek, który będzie posiadał tylko jedno HPLC będzie mógł wykonać wymagane testy, jednak czas zwolnienia wydłuży się o zmianę kolumn i odczynników, a także czyszczenie urządzenia.

Aby sprostać tym wyzwaniom kontroli jakości, podejmowane są liczne działania mające na celu opracowanie zintegrowanych urządzeń do testowania QC, które automatycznie wykonują i dokumentują wszystkie wymagane testy. Mikroprzepływowe systemy kontroli jakości cieszą się coraz większym zainteresowaniem ze względu na znacznie mniejsze zużycie próbek i odczynników, krótszy czasu analizy, wyższą czułość wykrywania i zmniejszony rozmiar oprzyrządowania [116].

Kolejnym etapem generującym straty był dodatkowy montaż na dyspenserze strzykawkowym w przypadku rozlewu na dyspenserach fiolkowych. Czas przygotowania takiego dyspensera po zwolnieniu wynosi około 10 minut. Z uwagi na zachowanie bezpieczeństwa pracy z promieniowaniem był to etap konieczny. Etap ten generował straty na poziomie 6% dla znaczników z izotopem fluoru  $^{18}\text{F}$  i 29% dla znaczników z izotopem węgla  $^{11}\text{C}$ . Możliwe jest skrócenie tego etapu przez przygotowanie dyspensera strzykawkowego w czasie zwalniania serii przez QP. Czasy obu etapów uległyby pokryciu i pozwoliły na zaoszczędzenie aktywności na dawki dla pacjenta. Rozważenie przygotowania dyspensera w trakcie zwalniania serii przez QP musi odbyć się na podstawie ilości zwalnianych serii danego znacznika. Jeśli znacznik jest zwalniany często, można rozważyć przygotowanie dyspensera przed zwolnieniem do zastosowania, jednak w przypadku, gdy znacznik rzadko jest zwalniany

do zastosowania, z uwagi na bardzo trudny proces syntezy, nie powinno się przygotowywać dyspensera przed zwolnieniem, ponieważ będzie to generowało dodatkowe koszty w postaci niewykorzystanego sterylne, jednorazowego zestawu.

Kolejnym etapem, który mógłby zostać poprawiony jest zwalnianie serii przez QP oraz czas przygotowania i wydruku dokumentów używanych w produkcji i kontroli jakości. Obecnie na rynku znajdują się systemy, dzięki któremu dane z używanych urządzeń są automatycznie zbierane i wpisywane w wymagane rubryki dokumentów. Dokumenty są wypełniane na bieżąco, a wygenerowane przez urządzenia raporty, są dodawane w formie załączników do zapisu serii. Dodatkowo można oglądać postępy w tworzeniu dokumentacji w czasie rzeczywistym, co pozwala osobie wykwalifikowanej na analizę danych w trakcie i szybsze zwolnienie serii.

Przyglądając się całościowo na czas danego etapu, konfiguracje QC, ubytek aktywności na fiolki poboczne oraz wybór dyspensera do rozlewu, najlepszym rozwiązaniem okazuje się użycie dyspensera Althea do rozlewu w połączeniu z QC z wykonaniem badań LAL i GC po zwolnieniu. Porównując ten wybór do innych zestawień, można wygenerować aktywności pozwalające na wykonanie większej ilości badań dla poszczególnych znaczników:

- dla [ $^{18}\text{F}$ ]FDG można wykonać aż o 8 badań więcej na jednym skanerze PET oraz 14 badań więcej na dwa skanery PET (ryciny 69 - 72),
- [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA można wykonać aż o 3 badania więcej na jednym skanerze PET oraz 5 badania więcej na dwa skanery PET (ryciny 73 - 76),
- ([ $^{11}\text{C}$ ]-metyl)Cholina można wykonać aż o 2 badanie więcej na jednym skanerze PET oraz 2 badania więcej na dwa skanery PET (ryciny 77 - 80),
- [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ] Octan Sodu można wykonać aż o 1 badania więcej na jednym skanerze PET oraz 1 badanie więcej na dwa skanery PET (ryciny 81 - 84).

Do zwiększenia ilości aktywności dla pacjentów mogą się przyczynić, i w tym przypadku, coraz to nowsze technologie, wydajniejsze cyklotrony oraz metody syntezy pozwalające na osiągnięcie wysokich wydajności otrzymanego radiofarmaceutyku lub zmiana izotopu węgla  $^{11}\text{C}$  na  $^{18}\text{F}$ , co korzystnie wpłynie na spadek aktywności danego preparatu [117]. Zwiększenie wydajności syntezy [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA z opisanych powyżej 15% do 30 %, stosując metodą Lemaire i Libert lub nawet 40%, stosując metodę Edwards & Wirth, już nie czyni go

znacznikiem niszowym [118,119,120]. Zmiana izotopu węgla  $^{11}\text{C}$  na  $^{18}\text{F}$  w syntezie choliny daje możliwość wykonania większej ilości badań bez zmiany techniki obrazowania jaką jest badanie PET [121].



		[ <sup>18</sup> F]FDG - CLIO (fiolki)									
		Czas połowicznego rozpadu izotopu fluoru <sup>18</sup> F (min)						109,5			
		Koncentracja EOS (MBq/mL)						3000			
		Strata na fiolki poboczne (MBq)						33000			
		Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III			
		QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC			
ETAP		CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	
Początek procesu			60000,00			60000,00			60000,00		
Przygotowanie rozcieńczenia	6		↓	-3,73	6	↓	-3,73	6	↓	-3,73	
			57763,89			57763,89			57763,89		
Rozlew	20		↓	-11,89	20	↓	-11,89	20	↓	-11,89	
			50894,85			50894,85			50894,85		
Strata na fiolki poboczne			↓	-64,84		↓	-64,84		↓	-64,84	
			17894,85			17894,85			17894,85		
Kontrola jakości	111		↓	-50,47	68	↓	-34,98	49	↓	-26,67	
			8862,87			11635,55			13122,62		
Zwolnienie serii przez QP	15		↓	-9,06	15	↓	-9,06	15	↓	-9,06	
			8060,04			10581,57			11933,93		
Montaż w dyspenserze strzykawkowym	10		↓	-6,13	10	↓	-6,13	10	↓	-6,13	
			7565,65			9932,50			11201,91		
Aktywność pozostała do badań PET											
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	162				119			100			
Całkowity procentowy spadek aktywności				-87,39			-83,45			-81,33	
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania			5 - 7 MBq/kg			5 - 7 MBq/kg			5 - 7 MBq/kg		
Aktywność dla pacjenta 70 kg			350 - 490 MBq			350 - 490 MBq			350 - 490 MBq		
Czas potrzebny na badanie			25 min			25 min			25 min		
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie		I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	
		7x	👤	9x	👤	8x	👤	11x	👤	9x	👤
										12x	👤

**Rycina 69.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [<sup>18</sup>F]FDG na dyspenserze Clio (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).









[ <sup>18</sup> F]FDG - THEODORICO (fiolki)										
								Czas połowicznego rozpadu izotopu fluoru <sup>18</sup> F (min)		109,5
								Koncentracja EOS (MBq/mL)		3000
								Strata na fiolki poboczne (MBq)		33000
Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III				
QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC				
ETAP	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	
Początek procesu		60000,00			60000,00			60000,00		
Przygotowanie rozcieńczenia	2	↓	-1,26	2	↓	-1,26	2	↓	-1,26	
		59245,17			59245,17			59245,17		
Rozlew	12	↓	-7,31	12	↓	-7,31	12	↓	-7,31	
		54911,51			54911,51			54911,51		
Strata na fiolki poboczne		↓	-60,10		↓	-60,10		↓	-60,10	
		21911,51			21911,51			21911,51		
Kontrola jakości	111	↓	-50,47	68	↓	-34,98	49	↓	-26,67	
		10852,22			14247,26			16068,11		
Zwolnienie serii przez QP	15	↓	-9,06	15	↓	-9,06	15	↓	-9,06	
		9869,19			12956,70			14612,61		
Montaż w dyspenserze strzykawkowym	10	↓	-6,13	10	↓	-6,13	10	↓	-6,13	
Aktywność pozostała do badań PET		9263,82			12161,94			13716,29		
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	150			107			88			
Całkowity procentowy spadek aktywności			-84,56			-79,73			-77,14	
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		5 - 7 MBq/kg			5 - 7 MBq/kg			5 - 7 MBq/kg		
Aktywność dla pacjenta 70 kg		350 - 490 MBq			350 - 490 MBq			350 - 490 MBq		
Czas potrzebny na badanie		25 min			25 min			25 min		
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie	I SKANER			II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER	II SKANERY	
	8x	👤		11x	👤	10x	👤	13x	👤	
								10x	👤	
									14x	

**Rycina 70.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [<sup>18</sup>F]FDG na dyspenserze Theodorico (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).





	[ <sup>18</sup> F]FDG - CLIO (strzykawki)								
	Czas połowicznego rozpadu izotopu fluoru <sup>18</sup> F (min)								109,5
	Koncentracja EOS (MBq/mL)								3000
	Strata na strzykawki poboczne (MBq)								33000
	Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III		
QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC			
ETAP	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)
Początek procesu		60000,00			60000,00			60000,00	
Przygotowanie rozcieńczenia	6	↓	-3,73	6	↓	-3,73	6	↓	-3,73
		57763,89			57763,89			57763,89	
Rozlew	14	↓	-8,48	14	↓	-8,48	14	↓	-8,48
		52865,04			52865,04			52865,04	
Strata na strzykawki poboczne		↓	-62,42		↓	-62,42		↓	-62,42
		19865,04			19865,04			19865,04	
Kontrola jakości	111	↓	-50,47	68	↓	-34,98	49	↓	-26,67
		9838,66			12916,61			14567,40	
Zwolnienie serii przez QP	15	↓	-9,06	15	↓	-9,06	15	↓	-9,06
		8947,44			11746,58			13247,84	
Aktywność pozostała do badań PET									
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	146			103			84		
Całkowity procentowy spadek aktywności			-85,09			-80,42			-77,92
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		5 - 7 MBq/kg		5 - 7 MBq/kg			5 - 7 MBq/kg		
Aktywność dla pacjenta 70 kg		350 - 490 MBq		350 - 490 MBq			350 - 490 MBq		
Czas potrzebny na badanie		25 min		25 min			25 min		
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie	I SKANER			II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER	II SKANERY
	8x 			10x 	9x 		12x 	10x 	14x 







**Rycina 71.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [<sup>18</sup>F]FDG na dyspenserze Clio (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC(AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).



		[ <sup>18</sup> F]FDG - ALTHEA (strzykawki)								
		Czas połowicznego rozpadu izotopu fluoru <sup>18</sup> F (min)						109,5		
		Koncentracja EOS (MBq/mL)						3000		
		Strata na strzykawki poboczne (MBq)						2940		
		Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III		
		QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC		
ETAP		CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)
Początek procesu										
			60000,00			60000,00			60000,00	
Przygotowanie rozcieńczenia	2			-1,26	2		-1,26	2		-1,26
			59245,17			59245,17			59245,17	
Rozlew	10			-6,13	10		-6,13	10		-6,13
			55611,12			55611,12			55611,12	
Strata na strzykawki poboczne				-5,29			-5,29			-5,29
			52671,12			52671,12			52671,12	
Kontrola jakości	111			-50,47	68		-34,98	49		-26,67
			26086,68			34247,71			38624,70	
Zwolnienie serii przez QP	15			-9,06	15		-9,06	15		-9,06
			23723,67			31145,45			35125,95	
Aktywność pozostała do badań PET										
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	138				95			76		
Całkowity procentowy spadek aktywności				-60,46			-48,09			-41,46
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania			5 - 7 MBq/kg			5 - 7 MBq/kg			5 - 7 MBq/kg	
Aktywność dla pacjenta 70 kg			350 - 490 MBq			350 - 490 MBq			350 - 490 MBq	
Czas potrzebny na badanie			25 min			25 min			25 min	
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie		I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY
		13x		19x	14x		22x	15x		23x

**Rycina 72.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [<sup>18</sup>F]FDG na dyspenserze Althea (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).



[ <sup>18</sup> F]F-DOPA - CLIO (fiolki)									
Czas połowicznego rozpadu izotopu fluoru <sup>18</sup> F (min)								109,5	
Koncentracja EOS (MBq/mL)								300	
Strata na fiolki poboczne (MBq)								3300	
Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III			
QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC			
ETAP	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)
Początek procesu		7000,00			7000,00			7000,00	
Przygotowanie rozcieńczenia	6	↓	-3,73	6	↓	-3,73	6	↓	-3,73
		6739,12			6739,12			6739,12	
Rozlew	20	↓	-11,89	20	↓	-11,89	20	↓	-11,89
		5937,73			5937,73			5937,73	
Strata na fiolki poboczne		↓	-55,58		↓	-55,58		↓	-55,58
		2637,73			2637,73			2637,73	
Kontrola jakości	112	↓	-50,79	69	↓	-35,39	50	↓	-27,13
		1298,16			1704,28			1922,09	
Zwolnienie serii przez QP	15	↓	-9,06	15	↓	-9,06	15	↓	-9,06
		1180,57			1549,90			1747,98	
Montaż w dyspenserze strzykawkowym	10	↓	-6,13	10	↓	-6,13	10	↓	-6,13
<b>Aktywność pozostała do badań PET</b>		<b>1108,15</b>			<b>1454,83</b>			<b>1640,76</b>	
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	163			120			101		
Całkowity procentowy spadek aktywności			-84,17			-79,22			-76,56
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		4 MBq/kg			4 MBq/kg			4 MBq/kg	
Aktywność dla pacjenta 70 kg		280 MBq			280 MBq			280 MBq	
Czas potrzebny na badanie		25 min			25 min			25 min	
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY
	3x 		3x 	3x 		4x 	4x 		4x 

**Rycina 73.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [<sup>18</sup>F]F-DOPA na dyspenserze Clio (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).











		[ <sup>18</sup> F]F-DOPA - THEODORICO (fiolki)										
		Czas połowicznego rozpadu izotopu fluoru <sup>18</sup> F (min)						109,5				
		Koncentracja EOS (MBq/mL)						300				
		Strata na fiolki poboczne (MBq)						3300				
		Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III				
		QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC				
ETAP		CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)		
Początek procesu			7000,00			7000,00			7000,00			
Przygotowanie rozcieńczenia	2			-1,26			-1,26			-1,26		
			6911,94			6911,94			6911,94			
Rozlew	12			-7,31			-7,31			-7,31		
			6406,34			6406,34			6406,34			
Strata na fiolki poboczne				-51,51			-51,51			-51,51		
			3106,34			3106,34			3106,34			
Kontrola jakości	112			-50,79	69			-35,39	50			-27,13
			1528,79			2007,05			2263,56			
Zwolnienie serii przez QP	15			-9,06	15			-9,06	15			-9,06
			1390,30			1825,25			2058,52			
Montaż w dyspenserze strzykawkowym	10			-6,13	10			-6,13	10			-6,13
			1305,02			1713,29			1932,26			
Aktywność pozostała do badań PET												
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	151				108			89				
Całkowity procentowy spadek aktywności				-81,36			-75,52			-72,40		
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania			4 MBq/kg			4 MBq/kg			4 MBq/kg			
Aktywność dla pacjenta 70 kg			280 MBq			280 MBq			280 MBq			
Czas potrzebny na badanie			25 min			25 min			25 min			
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie		I SKANER			II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	
		3x			3x	4x		4x	4x		5x	

**Rycina 74.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [<sup>18</sup>F]F-DOPA na dyspenserze Theodorico (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).





[ <sup>18</sup> F]F-DOPA - CLIO (strzykawki)									
Czas połowicznego rozpadu izotopu fluoru <sup>18</sup> F (min)								109,5	
Koncentracja EOS (MBq/mL)								300	
Strata na strzykawki poboczne (MBq)								3300	
Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III			
QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC STARA BEZ LAL + GC			
ETAP	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)
Początek procesu		7000,00			7000,00			7000,00	
Przygotowanie rozcieńczenia	6	↓	-3,73	6	↓	-3,73	6	↓	-3,73
		6739,12			6739,12			6739,12	
Rozlew	14	↓	-8,48	14	↓	-8,48	14	↓	-8,48
		6167,59			6167,59			6167,59	
Strata na strzykawki poboczne		↓	-53,51		↓	-53,51		↓	-53,51
		2867,59			2867,59			2867,59	
Kontrola jakości	112	↓	-50,79	69	↓	-35,39	50	↓	-27,13
		1411,28			1852,79			2089,59	
Zwolnienie serii przez QP	15	↓	-9,06	15	↓	-9,06	15	↓	-9,06
Aktywność pozostała do badań PET		1283,44			1684,96			1900,30	
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	147			104			85		
Całkowity procentowy spadek aktywności			-81,67			-75,93			-72,85
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		4 MBq/kg		4 MBq/kg			4 MBq/kg		
Aktywność dla pacjenta 70 kg		280 MBq		280 MBq			280 MBq		
Czas potrzebny na badanie		25 min		25 min			25 min		
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY
	3x 		3x 	4x 		4x 	4x 		5x 







**Rycina 75.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [<sup>18</sup>F]F-DOPA na dyspenserze Clio (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).



	[ <sup>18</sup> F]F-DOPA - ALTHEA (strzykawki)								
	Czas połowicznego rozpadu izotopu fluoru <sup>18</sup> F (min)						109,5		
	Koncentracja EOS (MBq/mL)						300		
	Strata na strzykawki poboczne (MBq)						1680		
ETAP	Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III		
	QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC		
	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)
Początek procesu		7000,00			7000,00			7000,00	
Przygotowanie rozcieńczenia	2		-1,26	2		-1,26	2		-1,26
		6911,94			6911,94			6911,94	
Rozlew	10		-6,13	10		-6,13	10		-6,13
		6487,96			6487,96			6487,96	
Strata na strzykawki poboczne			-25,89			-25,89			-25,89
		4807,96			4807,96			4807,96	
Kontrola jakości	112		-50,79	69		-35,39	50		-27,13
		2366,24			3106,50			3503,52	
Zwolnienie serii przez QP	15		-9,06	15		-9,06	15		-9,06
Aktywność pozostała do badań PET		2151,90			2825,10			3186,16	
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	139			96			77		
Całkowity procentowy spadek aktywności			-69,26			-59,64			-54,48
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		4 MBq/kg			4 MBq/kg			4 MBq/kg	
Aktywność dla pacjenta 70 kg		280 MBq			280 MBq			280 MBq	
Czas potrzebny na badanie		25 min			25 min			25 min	
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonanie badanie	I SKANER			II SKANERY		I SKANER	II SKANERY		I SKANER
	4x			5x		5x		7x	
								6x	
									8x

**Rycina 76.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [<sup>18</sup>F]F-DOPA na dyspenserze Althea (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).



([ <sup>11</sup> C]-METYL)CHOLINA - CLIO (fiolki)									
Czas połowicznego rozpadu izotopu węgla <sup>11</sup> C (min)								20,5	
Koncentracja EOS (MBq/mL)								700	
Strata na fiolki poboczne (MBq)								7700	
Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III			
QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC			
ETAP	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)
Początek procesu		20000,00		20000,00		20000,00		20000,00	
Przygotowanie rozcieńczenia	6	↓	-18,36	6	↓	-18,36	6	↓	-18,36
		16327,65		16327,65		16327,65		16327,65	
Rozlew	20	↓	-49,15	20	↓	-49,15	20	↓	-49,15
		8303,02		8303,02		8303,02		8303,02	
Strata na fiolki poboczne		↓	-92,74		↓	-92,74		↓	-92,74
		603,02		603,02		603,02		603,02	
Kontrola jakości	111	↓	-97,66	68	↓	-89,97	36	↓	-70,40
		14,14		60,50		178,52			
Zwolnienie serii przez QP	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78
		8,51		36,44		107,50			
Montaż w dyspenserze strzykawkowym	10	↓	-28,69	10	↓	-28,69	10	↓	-28,69
		6,07		25,98		76,66			
Aktywność pozostała do badań PET		6,07		25,98		76,66			
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	162			119			87		
Całkowity procentowy spadek aktywności			-99,97			-99,87			-99,62
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		3,5 - 5 MBq/kg		3,5 - 5 MBq/kg		3,5 - 5 MBq/kg			
Aktywność dla pacjenta 70 kg		245 - 350 MBq		245 - 350 MBq		245 - 350 MBq			
Czas potrzebny na badanie		25 min		25 min		25 min			
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY
	0x 		0x 	0x 		0x 	0x 		0x 

**Rycina 77.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina na dyspenserze Clio (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).











([ <sup>11</sup> C]-METYL)CHOLINA - THEODORICO (fiolki)										
Czas połowicznego rozpadu izotopu węgla <sup>11</sup> C (min)								20,5		
Koncentracja EOS (MBq/mL)								700		
Strata na fiolki poboczne (MBq)								7700		
Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III				
QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC				
ETAP	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	
Początek procesu		20000,00			20000,00			20000,00		
Przygotowanie rozcieńczenia	2		-6,54	2		-6,54	2		-6,54	
		18692,23			18692,23			18692,23		
Rozlew	12		-33,35	12		-33,35	12		-33,35	
		12458,01			12458,01			12458,01		
Starta na fiolki poboczne			-61,81			-61,81			-61,81	
		4758,01			4758,01			4758,01		
Kontrola jakości	111		-97,66	68		-89,97	36		-70,40	
		111,55			477,40			1408,60		
Zwolnienie serii przez QP	15		-39,78	15		-39,78	15		-39,78	
		67,17			287,49			848,24		
Montaż w dyspenserze strzykawkowym	10		-28,69	10		-28,69	10		-28,69	
		47,90			205,01			604,89		
Aktywność pozostała do badań PET		47,90			205,01			604,89		
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	150			107			75			
Całkowity procentowy spadek aktywności			-99,76			-98,97			-96,98	
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		3,5 - 5 MBq/kg			3,5 - 5 MBq/kg			3,5 - 5 MBq/kg		
Aktywność dla pacjenta 70 kg		245 - 350 MBq			245 - 350 MBq			245 - 350 MBq		
Czas potrzebny na badanie		25 min			25 min			25 min		
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie	I SKANER		II SKANERY		I SKANER		II SKANERY		I SKANER	
	0x		0x		0x		0x		1x	

**Rycina 78.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina na dyspenserze Theodorico (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).





([ <sup>11</sup> C]-METYL)CHOLINA - CLIO (strzykawki)									
Czas połowicznego rozpadu izotopu węgla <sup>11</sup> C (min)								20,5	
Koncentracja EOS (MBq/mL)								700	
Strata na strzykawki poboczne (MBq)								7700	
Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III			
QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC			
ETAP	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)
Początek procesu		20000,00			20000,00			20000,00	
Przygotowanie rozcieńczenia	6	↓	-18,36	6	↓	-18,36	6	↓	-18,36
		16327,65			16327,65			16327,65	
Rozlew	14	↓	-37,71	14	↓	-37,71	14	↓	-37,71
		10170,50			10170,50			10170,50	
Starta na strzykawki poboczne		↓	-75,71		↓	-75,71		↓	-75,71
		2470,50			2470,50			2470,50	
Kontrola jakości	111	↓	-97,66	68	↓	-89,97	36	↓	-70,40
		57,92			247,88			731,39	
Zwolnienie serii przez QP	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78
		34,88			149,27			440,43	
Aktywność pozostała do badań PET									
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	146			103			71		
Całkowity procentowy spadek aktywności			-99,83			-99,25			-97,80
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		3,5 - 5 MBq/kg			3,5 - 5 MBq/kg			3,5 - 5 MBq/kg	
Aktywność dla pacjenta 70 kg		245 - 350 MBq			245 - 350 MBq			245 - 350 MBq	
Czas potrzebny na badanie		25 min			25 min			25 min	
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonanie badanie	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY
	0x 		0x 	0x 		0x 	1x 		1x 

**Rycina 79.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina na dyspenserze Clio (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).



([ <sup>11</sup> C]-METYL)CHOLINA - ALTHEA (strzykawki)									
Czas połowicznego rozpadu izotopu węgla <sup>11</sup> C (min)								20,5	
Koncentracja EOS (MBq/mL)								700	
Strata na strzykawki poboczne (MBq)								1785	
Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III			
QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC			
ETAP	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)
Początek procesu		20000,00			20000,00			20000,00	
Przygotowanie rozcieńczenia	2	↓	-6,54	2	↓	-6,54	2	↓	-6,54
		18692,23			18692,23			18692,23	
Rozlew	10	↓	-28,69	10	↓	-28,69	10	↓	-28,69
		13329,61			13329,61			13329,61	
Strata na strzykawki poboczne		↓	-13,39		↓	-13,39		↓	-13,39
		11544,61			11544,61			11544,61	
Kontrola jakości	111	↓	-97,66	68	↓	-89,97	36	↓	-70,40
		270,65			1158,35			3417,76	
Zwolnienie serii przez QP	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78
Aktywność pozostała do badań PET		162,98			697,55			2058,14	
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	138			95			63		
Całkowity procentowy spadek aktywności			-99,19			-96,51			-89,71
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		3,5 - 5 MBq/kg			3,5 - 5 MBq/kg			3,5 - 5 MBq/kg	
Aktywność dla pacjenta 70 kg		245 - 350 MBq			245 - 350 MBq			245 - 350 MBq	
Czas potrzebny na badanie		25 min			25 min			25 min	
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY
	0x		0x	1x		2x	2x		2x

**Rycina 80.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina na dyspenserze Althea (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).









[1- <sup>11</sup> C]OCTAN SODU - CLIO (fiolki)									
Czas połowicznego rozpadu izotopu węgla <sup>11</sup> C (min)								20,5	
Koncentracja EOS (MBq/mL)								700	
Strata na fiolki poboczne (MBq)								7700	
Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III			
QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC			
ETAP	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)
Początek procesu		20000,00			20000,00			20000,00	
Przygotowanie rozcieńczenia	6	↓	-18,36	6	↓	-18,36	6	↓	-18,36
		16327,65			16327,65			16327,65	
Rozlew	20	↓	-49,15	20	↓	-49,15	20	↓	-49,15
		8303,02			8303,02			8303,02	
Strata na fiolki poboczne		↓	-92,74		↓	-92,74		↓	-92,74
		603,02			603,02			603,02	
Kontrola jakości	111	↓	-97,66	68	↓	-89,97	31	↓	-64,94
		14,14			60,50			211,40	
Zwolnienie serii przez QP	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78
		8,51			36,44			127,31	
Montaż w dyspenserze strzykawkowym	10	↓	-28,69	10	↓	-28,69	10	↓	-28,69
Aktywność pozostała do badań PET		6,07			25,98			90,78	
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	162			119			82		
Całkowity procentowy spadek aktywności			-99,97			-99,87			-99,55
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		8 - 17 MBq/kg			8 - 17 MBq/kg			8 - 17 MBq/kg	
Aktywność dla pacjenta 70 kg		490 - 1190 MBq			490 - 1190 MBq			490 - 1190 MBq	
Czas potrzebny na badanie		25 min			25 min			25 min	
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY
	0x		0x	0x		0x	0x		0x

**Rycina 81.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodu na dyspenserze Clio (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).





[1- <sup>11</sup> C]OCTAN SODU - THEODORICO (fiolki)									
Czas połowicznego rozpadu izotopu węgla <sup>11</sup> C (min)								20,5	
Koncentracja EOS (MBq/mL)								700	
Strata na fiolki poboczne (MBq)								7700	
Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III			
QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC			
ETAP	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)
Początek procesu		20000,00			20000,00			20000,00	
Przygotowanie rozcieńczenia	2	↓	-6,54	2	↓	-6,54	2	↓	-6,54
		18692,23			18692,23			18692,23	
Rozlew	12	↓	-33,35	12	↓	-33,35	12	↓	-33,35
		12458,01			12458,01			12458,01	
Strata na fiolki poboczne		↓	-61,81		↓	-61,81		↓	-61,81
		4758,01			4758,01			4758,01	
Kontrola jakości	111	↓	-97,66	68	↓	-89,97	31	↓	-64,94
		111,55			477,40			1668,05	
Zwolnienie serii przez QP	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78
		67,17			287,49			1004,48	
Montaż w dyspenserze strzykawkowym	10	↓	-28,69	10	↓	-28,69	10	↓	-28,69
Aktywność pozostała do badań PET		47,90			205,01			716,31	
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	150			107			70		
Całkowity procentowy spadek aktywności			-99,76			-98,97			-96,42
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		8 - 17 MBq/kg		8 - 17 MBq/kg			8 - 17 MBq/kg		
Aktywność dla pacjenta 70 kg		490 - 1190 MBq		490 - 1190 MBq			490 - 1190 MBq		
Czas potrzebny na badanie		25 min		25 min			25 min		
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY
	0x 		0x 	0x 		0x 	0x 		0x 

**Rycina 82.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodiu na dyspenserze Theodorico (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).











[1- <sup>11</sup> C]OCTAN SODU - CLIO (strzykawki)									
Czas połowicznego rozpadu izotopu węgla <sup>11</sup> C (min)								20,5	
Koncentracja EOS (MBq/mL)								700	
Strata na strzykawki poboczne (MBq)								7700	
Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III			
QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC			
ETAP	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)
Początek procesu		20000,00			20000,00			20000,00	
Przygotowanie rozcieńczenia	6	↓	-18,36	6	↓	-18,36	6	↓	-18,36
		16327,65			16327,65			16327,65	
Rozlew	14	↓	-37,71	14	↓	-37,71	14	↓	-37,71
		10170,50			10170,50			10170,50	
Strata na strzykawki poboczne		↓	-75,71		↓	-75,71		↓	-75,71
		2470,50			2470,50			2470,50	
Kontrola jakości	111	↓	-97,66	68	↓	-89,97	31	↓	-64,94
		57,92			247,88			866,10	
Zwolnienie serii przez QP	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78
Aktywność pozostała do badań PET		34,88			149,27			521,56	
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	146			103			66		
Całkowity procentowy spadek aktywności			-99,83			-99,25			-97,39
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		8 - 17 MBq/kg			8 - 17 MBq/kg			8 - 17 MBq/kg	
Aktywność dla pacjenta 70 kg		490 - 1190 MBq			490 - 1190 MBq			490 - 1190 MBq	
Czas potrzebny na badanie		25 min			25 min			25 min	
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonanie badanie	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY
	0x		0x	0x		0x	0x		0x

**Rycina 83.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodu na dyspenserze Clio (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).



[1- <sup>11</sup> C]OCTAN SODU - ALTHEA (strzykawki)									
Czas połowicznego rozpadu izotopu węgla <sup>11</sup> C (min)									20,5
Koncentracja EOS (MBq/mL)									700
Strata na strzykawki poboczne (MBq)									7140
Rozlew I			Rozlew II			Rozlew III			
QC METODA I LAL + GC			QC METODA II LAL + GC			QC BEZ LAL + GC			
ETAP	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)	CZAS (min)	AKTY (MBq)	PS AKT (%)
Początek procesu		20000,00			20000,00			20000,00	
Przygotowanie rozcieńczenia	2	↓	-6,54	2	↓	-6,54	2	↓	-6,54
		18692,23			18692,23			18692,23	
Rozlew	10	↓	-28,69	10	↓	-28,69	10	↓	-28,69
		13329,61			13329,61			13329,61	
Strata na strzykawki poboczne		↓	-53,56		↓	-53,56		↓	-53,56
		6189,61			6189,61			6189,61	
Kontrola jakości	111	↓	-97,66	68	↓	-89,97	31	↓	-64,94
		145,11			621,05			2169,94	
Zwolnienie serii przez QP	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78	15	↓	-39,78
Aktywność pozostała do badań PET		87,38			373,99			1306,72	
Całkowity czas przygotowania dawek dla pacjenta	138			95			58		
Całkowity procentowy spadek aktywności			-99,56			-98,13			-93,47
Aktywność wg procedury wzorcowej potrzebna do wykonania badania		8 - 17 MBq/kg			8 - 17 MBq/kg			8 - 17 MBq/kg	
Aktywność dla pacjenta 70 kg		490 - 1190 MBq			490 - 1190 MBq			490 - 1190 MBq	
Czas potrzebny na badanie		25 min			25 min			25 min	
Ilość pacjentów, którym zostanie wykonane badanie	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY	I SKANER		II SKANERY
	0x 		0x 	0x 		0x 	1x 		1x 

**Rycina 84.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [1-<sup>11</sup>C] Octan Sodiu na dyspenserze Althea (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC (AKTY- aktywność, PS AKT – procentowy spadek aktywności).



## 6. Wnioski

### 1. Optymalizacja syntezy wybranych radioznaczników w celu uzyskania najwyższej wydajności radiochemicznej oraz czystości radiochemicznej.

#### a) [<sup>18</sup>F]FDG

- W wyniku prowadzonych prac wykonano syntezę [<sup>18</sup>F]FDG przy użyciu prekursora triflatu mannozy na module Explora FDG<sub>4</sub> z zastosowaniem hydrolizy kwasowej w czasie 45 minut przy wydajności RCY 60-70% i czystości radiochemicznej RCP >99%.
- Wydłużenie czasu hydrolizy na etapie syntezy [<sup>18</sup>F]FDG znacząco podniosło czystość radiochemiczną przy zachowaniu czystości chemicznej i wskaźnika pH oraz niewielkiej utracie aktywności, poprawiając parametry jakościowe produktu końcowego.
- Wynik na granicy akceptacja/odrzućenie może mieć wpływ na negatywny przebieg badania stabilności radiofarmaceutyku [<sup>18</sup>F]FDG. Podwyższenie czystości radiochemicznej pozwoliło na uniknięcie unieważnienia tego badania z powodu wpływu błędu pomiarowego urządzenia oraz ewentualnego błędu ludzkiego.
- Ograniczenie zanieczyszczeń acetylo-[<sup>18</sup>F]FDG do minimum może ograniczyć wpływy GLUT-niezależnej akumulacji [<sup>18</sup>F]FDG w komórkach nowotworowych, co pozwala uniknąć wyniku pozytywnie dodatniego w obrazowaniu PET.

#### b) [<sup>18</sup>F]-DOPA

- Pomyślnie przeprowadzono nukleofilową metodę syntezy [<sup>18</sup>F]F-DOPA w czasie 120 minut z zastosowaniem prekursora ABX 1336 na module Raytest SynChrom R&D przy wydajności RCY = 13 - 15%, czystości radiochemicznej RCP ≥ 97% i enancjomerycznej ee ≥ 96%.
- Użycie mniejszej ilości prekursora ABX 1336 oraz odpowiedni dobór utleniacza mCPBA w utleniania Baeyera-Villigera korzystnie wpłynęło na wydajność syntezy [<sup>18</sup>F]F-DOPA.
- Zastosowanie oczyszczania produktu surowego metodą SPE, w porównaniu do oczyszczania na kolumnie półpreparatywnej pozwoliło wyeliminować błąd operatora polegający na zbyt późnym rozpoczęciu wychwytu piku właściwego,

co mogłoby powodować obniżenie wydajności syntezy lub na zbyt wczesnym wychwycie, co mogłoby wpłynąć na czystość końcową produktu.

- Zastosowanie oczyszczania SPE nie daje jednak możliwości zaobserwowania i zareagowania na zmieniające się warunki utleniania.
- W celu uniknięcia problemów związanych z gromadzeniem się zanieczyszczeń po syntezie [ $^{18}\text{F}$ ]-DOPA, wydają się, że lepszym rozwiązaniem będzie zastosowanie modułu z wymiennymi jednorazowymi kasetami do radiosyntezy lub systemem czyszczenia bezpośrednio po syntezie.

c) ([ $^{11}\text{C}$ ]-metyl)Cholina

- W wyniku prowadzonych prac wykonano syntezę ([ $^{11}\text{C}$ ]-metyl) Choliny w czasie 20 minut przy użyciu prekursora DMAE na module syntezy ModularLab przy wydajności RCY = 80% i czystości radiochemicznej RCP >99%.
- Wyeliminowano z syntezy ([ $^{11}\text{C}$ ]-metyl) Choliny dodatkowego rozpuszczalnika DMF do prekursora DMAE, co poprawiło bezpieczeństwo stosowania tego radiofarmaceutyku.
- Zastosowanie dwóch kolumn Sep-Pak Light Accell Plus CM do wypełniania prekursorem oraz oczyszczania obniżyło ilość DMAE >2,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  przy farmakopealnym limicie dopuszczalnym wynoszącym 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , poprawiając skuteczność stosowania preparatu.

d) [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ] Octan Sodu

- W wyniku prowadzonych prac wykonano syntezę [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ]Octan Sodu w czasie 12 minut przy użyciu prekursora  $\text{CH}_3\text{MgBr}$  z zastosowaniem destylacji jako metody oczyszczania, na module Explora AC przy wydajności RCY= 60-65% i czystości radiochemicznej RCP > 98%.
- Dobranie odpowiedniej ilości wody i kwasu w stosunku do zastosowanego prekursora  $\text{CH}_3\text{MgBr}$ , w trakcie syntezy poprawiło czystość i wydajność radiochemiczną [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ]Octan Sodu.

- W czasie syntezy [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu nie użyto dodatkowego rozpuszczalnika TMF do prekursora CH<sub>3</sub>MgBr, co poprawiło bezpieczeństwa stosowania tego radiofarmaceutyku.

## **2. Dostosowanie rozlewu serii dla wybranych znacznika na różnych typach dyspenserów porównując czas potrzebny na ich przygotowanie.**

- Najdłuższy czas potrzebny do przygotowania radiofarmaceutyków należało poświęcić używając dyspenserów fiolkowych, z powodu potrzeby przeniesienia aktywności z fiołki do strzykawki i dodatkowo używając do tego dyspensera strzykawkowego.
- Przygotowanie fiolek na dyspenserze automatycznym Theodorico było szybsze w porównaniu do dyspensera półautomatycznego Clio.
- Przygotowanie strzykawek na zmodyfikowanym dyspenserze Althea było szybsze w porównaniu do dyspensera półautomatycznego Clio, jednak zapewniało mniejsze bezpieczeństwo stosowania.
- Czas rozlew danego radiofarmaceutyku zależy od poziomu automatyzacji dyspensera, doświadczenia operatora oraz opakowania końcowego.

## **3. Przeprowadzenie kontroli jakości wybranych radiofarmaceutyków przy zachowaniu wymaganych kryteriów akceptacji zgodnych z wytycznymi farmakopei polskiej i europejskiej uwzględniając czas wykonania niezbędnych badań.**

- Wykonanie badania pozostałości rozpuszczalników nie miało wpływu na straty ilości preparatów bazujących na izotopie fluoru <sup>18</sup>F jak i węgla <sup>11</sup>C, ponieważ było ono równe lub nawet krótsze niż inne wymagane przez farmakopee testy QC.
- Należy rozważyć czy badanie pozostałości rozpuszczalników, powinno być badaniem wymaganym do wykonania przed zwolnieniem preparatu do zastosowania, dla preparatów, które mogą zawierać rozpuszczalniki potencjalnie toksyczne lub mogące mieć wpływ na wynik badania.
- Zastosowanie metody II oznaczania endotoksyn skróciło czas testu o połowę.

**4. Obliczenie końcowej wydajności i ilości badań PET możliwych do wykonania po przeprowadzeniu całego procesu wytwarzania, uwzględniając spadek aktywności oraz całkowitego czasu w trakcie przygotowania wybranych radiofarmaceutyków.**

- Duże aktywności w postaci stężonych radiofarmaceutyków generują problemy związane z przeładowaniem detektora radiometrycznego, możliwość nieutworzenia żelu w badaniu LAL, narażenie operatora na duże dawki pochłoniętego promieniowania jonizującego oraz powodują duże straty aktywności, która mogłaby zostać użyta na badania PET.
- Przeznaczenie aktywności na badania kontroli jakości, mikrobiologiczne oraz archiwum w postaci aktywności na poziomie dawki dla pacjenta, pozwala na uniknięcie przeładowania detektora, ograniczenie narażenia na promieniowanie jonizujące oraz oszczędność aktywności i przeznaczenia jej na dawki dla pacjenta.
- Rozlew na dyspenserze Althea w połączeniu z QC z brakiem wykonaniem badania LAL i GC pozwala na zaoszczędzenie dużych aktywności, które mogą być przeznaczone dla pacjentów na wykonanie badania PET.
- W przypadku wytwarzania [ $^{11}\text{C}$ ] Octan Sodu, jedynie wykonanie rozlewu na dyspenserze Althea z rozcieńczonym radiofarmaceutykiem, bez testu LAL i GC pozwala na zachowanie aktywności, która umożliwia wykonanie pojedynczego badania PET.
- Nowe technologie, systemy wspierania dokumentacji, wydajniejsze cyklotrony i metody syntez przyczynią się do zwiększenia ilości aktywności, która będzie mogła zostać wykorzystana dla pacjentów na wykonanie badania PET.



Rozlew, kontrola jakości, uzupełnienie dokumentacji oraz zwolnienie radiofarmaceutyków są czynnościami wymagającymi czasu. Czas potrzebny na wykonanie tych czynności zgodnie ze wszystkimi wymaganiami prawnymi i przy zastosowaniu wysokospecjalistycznych urządzeń do rozlewu, powoduje zmniejszenie aktywności końcowej przeznaczonej na badania diagnostyczne. W przypadku znaczników niszowych o niskich wydajnościach i krótkim okresie połowicznego rozpadu, przejście tych etapów jest niekorzystne, a w niektórych przypadkach wręcz niemożliwe. Znaczniki tego typu choć korzystne diagnostycznie nie będą mają potencjału komercyjnego.

W przeciągu ostatnich 10 lat wzrosło zapotrzebowanie na medycynę spersonalizowaną i precyzyjną, a wykorzystanie radiofarmaceutyków w tym zakresie wydaje się obiecującym rozwiązaniem z punktu zindywidualizowanego leczenia pacjentów, szczególnie w onkologii. Postęp technologiczny związany z obrazowaniem molekularnym przy użyciu techniki PET i zastosowaniu preparatów izotopowych, daje szerokie możliwości w tym zakresie.

Aby dać szansę rozwojowi znaczników potencjalnie niekomercyjnych i przygotowywanych ma małą skalę, mających wysoki potencjał diagnostyczny, należałoby wziąć pod uwagę przygotowanie takich produktów w jednostkach szpitalnych na zasadach produkcji „in House”. Bariera z jaką mogą zmagać się szpitale w tym zakresie to potrzeba posiadania zindywidualizowanego, wysokospecjalistycznego sprzętu, przeznaczonego do przygotowania dawek na małą skalę i zapewniającego szybkie, ale i precyzyjne wytwarzanie preparatów radiofarmaceutycznych. Wymagania prawa farmaceutycznego w obecnej formie są trudne do spełnienia dla przyszpitalnych zakładów medycyny nuklearnej będących jednostkami budżetu państwa. Dlatego przy wsparciu krajowych organów regulujących prawo farmaceutyczne i atomowe w zakresie produkcji radiofarmaceutyków należałoby opracować nowe jednolite standardy dla radiofarmacji szpitalnej, zapewniające bezpieczeństwo, ale i elastyczność w zakresie przygotowania radiofarmaceutyków potencjalnie niekomercyjnych i przygotowywanych ma małą skalę, mających wysoki potencjał diagnostyczny na zasadach „in House”.

## 7. Streszczenie

Radiofarmaceutyki to substancje biologicznie czynne zawierające w swojej strukturze wybrany izotop promieniotwórczy. Składają się z trzech podstawowych elementów: radionuklidu, ligandu mającego powinowactwo do kumulowania się w patologicznie zmienionych tkankach oraz łącznika, którego zadaniem jest trwałe związanie pierwszej i drugiej składowej.

Metodą diagnostyczną wykorzystującą radiofarmaceutyki jest pozytonowa tomografia emisyjna (PET). Metoda ta jest metodą emisyjną i w odróżnieniu od metod absorpcyjnych, obraz jest generowany na podstawie informacji wysyłanych z obiektu, co wymaga umieszczenia źródła tych informacji w badanym obiekcie. Nośnikiem informacji w technice PET jest kwant promieniowania gamma, natomiast źródłem emitowanego promieniowania jest radiofarmaceutyk gromadzony w organizmie. Technologia PET oparta jest o stosowanie izotopów ulegających rozpadowi  $\beta^+$  i emitujących pozytony. Pozyton zderza się z elektronami ośrodka, następnym anihiluje zamieniając swoją masę na energię wyemitowaną w postaci dwóch kwantów gamma po 511 keV, każdy w przeciwnych kierunkach. Anihilacja jest podstawą, na której bazuje technologia PET.

Przygotowanie i stosowanie radiofarmaceutyków w Polsce jest regulowane przez Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 9 listopada 2015 (Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 28 kwietnia 2022 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie wymagań Dobrej Praktyki Wytwarzania) Aneks 3 Wytwarzanie Produktów Radiofarmaceutycznych oraz Aneks 1 Wytwarzanie Sterylnych Produktów Leczniczych.

Metody badań oraz wymagania jakościowe produktów radiofarmaceutycznych określa Farmakopea Polska, która została przetłumaczona z Farmakopei Europejskiej.

Do przygotowania radiofarmaceutyków przeznaczone są specjalistyczne urządzenia, których funkcjonowanie musi spełniać wymagania narzucone przez wymienione akty prawne, a ich konstrukcja musi zapewniać odpowiednią ochronę przed promieniowaniem jonizującym.

Radiofarmaceutyki to preparaty medyczne zawierające w swojej strukturze izotopy promieniotwórcze nadające cząsteczkom specjalnego charakteru, jakim jest „zanik leku w czasie”, a dodatkowo czynią pracę z nimi niebezpieczną z uwagi na emitowane przez nie promieniowanie jonizujące.

Problemem badawczym, który podjęto w pracy jest to, że przepisy w wymienionych aktach prawnych oraz konstrukcja urządzeń nie w pełni uwzględniają specjalną charakterystykę radiofarmaceutyków takich jak:

- Krótki okres połowicznego rozpadu izotopu użytego do znakowania, nie przekraczający 25 minut,
- Niska wydajność syntezy typowa dla znaczników niszowych, które nie mają potencjału komercyjnego,
- Przygotowanie radiofarmaceutyków na małą skalę (<30 pacjentów), co jest typowe dla produkcji radiofarmaceutyków w warunkach szpitalnych,
- Emisja promieniowania jonizującego regulowana przez Ustawę z dnia 29 listopada 2000 Prawo Atomowe.

Głównym celem rozprawy doktorskiej było zbadanie wpływu czasu potrzebnego na przygotowanie wybranych znaczników do diagnostyki onkologicznej z wykorzystaniem techniki PET uwzględniając wymienione wytyczne i konstrukcję urządzeń do rozlewu na końcową wydajność, którą można przeznaczyć na dawki dla pacjenta.

Z uwagi na ilość wykonywanych doświadczeń cel główny został podzielony cele szczegółowe:

- Optymalizacja syntezy wybranych radioznaczników, w celu uzyskania najwyższej wydajności oraz czystości radiochemicznej,
- Dostosowanie rozlewu serii dla wybranych znaczników na różnych typach dyspenserów porównując czas potrzebny na ich przygotowanie,
- Przeprowadzenie kontroli jakości wybranych radiofarmaceutyków przy zachowaniu wymaganych kryteriów akceptacji, zgodnych z wytycznymi Farmakopei Polskiej i Europejskiej uwzględniając czas wykonania niezbędnych badań,
- Obliczenie końcowej wydajności i ilości badań PET możliwych do wykonania po przeprowadzeniu całego procesu wytwarzania, uwzględniając spadek aktywności oraz całkowitego czasu w trakcie przygotowania wybranych radiofarmaceutyków.

Prace prowadzone nad optymalizacją syntez wybranych radiofarmaceutyków przyczynią się do uzyskania wyższej wydajności i czystości radiochemicznej. Pozwoli to na syntezę wybranych radiofarmaceutyków w ilościach umożliwiającą przeprowadzenie wszystkich niezbędnych czynności stawianych przez wymagania Rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie wymagań Dobrej Praktyki Wytwarzania oraz Farmakopei Polskiej i Europejskiej. Optymalizacja w postaci poprawy czystości radiochemicznej przyczynia się do poprawy bezpieczeństwa stosowania, a także do polepszenia uzyskanych obrazów z przeprowadzonych badań z zastosowaniem diagnostyki PET poprzez eliminację związków radioaktywnych wykazujących niespecyficzne wiązanie. Dodatkowo przeprowadzone modyfikacje na poziomie modułów syntezy wskazują na technicznie możliwości usprawnienia urządzeń w celu poprawy radiosyntezy wybranych radiofarmaceutyków.

Rozlew, kontrola jakości, uzupełnienie dokumentacji oraz zwolnienie radiofarmaceutyków przez Osobę Wykwalifikowaną do stosowania, są czynnościami wymagającymi czasu. Czas potrzebny na wykonanie tych czynności, zgodnie ze wszystkimi wymaganiami prawnymi i przy zastosowaniu wysokospecjalistycznych urządzeń do rozlewu, powoduje zmniejszenie aktywności końcowej przeznaczonej na badania diagnostyczne. W przypadku znaczników niszowych o niskich wydajnościach i krótkim okresie połowicznego rozpadu, przejście tych etapów jest niekorzystne, a w niektórych przypadkach wręcz niemożliwe. Znaczniki tego typu, choć korzystne diagnostycznie, nie będą miały potencjału komercyjnego.

W przeciągu ostatnich 10 lat wzrosło zapotrzebowanie na medycynę spersonalizowaną i precyzyjną, a wykorzystanie radiofarmaceutyków w tym zakresie wydaje się obiecującym rozwiązaniem z punktu zindywidualizowanego leczenia pacjentów, szczególnie w onkologii. Postęp technologiczny związany z obrazowaniem molekularnym przy użyciu techniki PET i zastosowaniu preparatów izotopowych, daje szerokie możliwości w tym zakresie.

Uzyskane wyniki wskazują, że aby dać szansę rozwojowi znaczników potencjalnie niekomercyjnych i przygotowywanych na małą skalę, należałoby wziąć pod uwagę przygotowanie takich produktów w jednostkach szpitalnych na zasadach produkcji „in House”, przy zastosowaniu urządzeń szybkich i precyzyjnych, dostosowanych do wytwarzania na małą skalę.

Oprócz technicznych usprawnień praca wskazuje na potencjał poprawy regulacji prawnych dla ewentualnej produkcji „in House”. Obecne wymagania prawa są trudne do spełnienia dla przyszpitalnych zakładów medycyny nuklearnej będących jednostkami budżetu państwa. Dlatego przy wsparciu krajowych organów regulujących prawo farmaceutyczne i atomowe w zakresie produkcji radiofarmaceutyków, należałoby opracować nowe jednolite standardy dla radiofarmacji szpitalnej, zapewniające bezpieczeństwo, ale i elastyczność w zakresie przygotowania radiofarmaceutyków potencjalnie niekomercyjnych i przygotowywanych na małą skalę, mających wysoki potencjał diagnostyczny, na zasadach „in House”.

## 8. Abstract

Radiopharmaceuticals are biologically active substances containing a selected radioactive isotope in their structure. They are composed of the three basic elements of a radionuclide, a ligand that has the affinity to accumulate in pathologically changed tissues, and a linker whose function is to permanently bind the first and second components.

A diagnostic method using radiopharmaceuticals is positron emission tomography (PET). This method is an emission method and, unlike absorption methods, the image is generated on the basis of information sent from the object, which requires the source of this information to be located in the object. The information carrier in PET is a gamma-ray quantum, while the source of the emitted radiation is a radiopharmaceutical stored in the body. PET technology is based on the use of isotopes that decay  $\beta^+$  and emit positrons. The positron collides with the electrons, the next one annihilates, converting its mass into energy emitted in the form of two gamma quanta of 511 keV each in opposite directions. Annihilation is the basis on which PET technology is based.

The preparation and use of radiopharmaceuticals in Poland is regulated by the Regulation of the Minister of Health of 9 November 2015 (Announcement of the Minister of Health of 28 April 2022 on the announcement of the consolidated text of the Regulation of the Minister of Health on the requirements of Good Manufacturing Practice) Annex 3 Manufacture of radiopharmaceutical products and Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products. Test methods and quality requirements for radiopharmaceutical products are defined by the Polish Pharmacopoeia, which has been translated from the European Pharmacopoeia.

Specialised equipment is used for the preparation of radiopharmaceuticals, the operation of which must comply with the requirements imposed by the aforementioned legislation and its design must ensure adequate protection against ionising radiation.

Radiopharmaceuticals are medical preparations containing in their structure radioactive isotopes that give the molecules a special character of "decay of the drug in time", and additionally make them dangerous to work with due to the ionising radiation they emit.

The research problem, is the provisions in the mentioned legislation and the design of the equipment do not fully take into account the special characteristics of radiopharmaceuticals such as:

- Short half-life of the isotope used for labelling, not longer than 25 minutes;
- Low synthesis yields typical of niche tracers that have no commercial potential;

- Preparation of radiopharmaceuticals on a small scale (<30 patients), which is typical of radiopharmaceutical production in a hospital setting,
- Emission of ionising radiation regulated by the Atomic Law of 29 November 2000.

The main objective was to investigate the impact of the time required for the preparation of selected tracers for oncology diagnosis using the PET technique taking into consideration the mentioned guidelines and the design of the dispensing equipment on the final yield that can be allocated to patient doses.

Due to the number of experiments to be performed, the main objective was divided into specific objectives:

- Optimisation of the synthesis of selected radiolabels, in order to obtain the highest yield and radiochemical purity;
- Adjustment of batch dispensing for selected tracers on different types of dispensers comparing the time required for their preparation;
- Carry out quality control of selected radiopharmaceuticals while maintaining the required acceptance criteria, in accordance with the guidelines of the Polish Pharmacopoeia and European Pharmacopoeia, taking into account the time needed to perform the necessary tests;
- Calculation of the final yield and number of PET tests possible after the whole manufacturing process, taking into account the decrease in activity and the total time during the preparation of the selected radiopharmaceuticals.

The work carried out on optimising the synthesis of selected radiopharmaceuticals will contribute to achieving higher yields and radiochemical purity. This will allow for the synthesis of selected radiopharmaceuticals in amounts that make it possible to carry out all the necessary steps required by the Regulation of the Minister of Health on the requirements of Good Manufacturing Practice and the Polish and European Pharmacopoeia and European Pharmacopoeias. Optimisations in the form of improved radiochemical purity contribute to improved safety of use, as well as to improved images obtained from PET diagnostic studies by eliminating radioactive compounds showing non-specific binding. In addition, the modifications carried out at the level of the synthesis modules indicate that it is technically possible to improve the equipment in order to improve the radiosynthesis of selected radiopharmaceuticals.

The dispensing, quality control, completion of documentation and release of radiopharmaceuticals are time-consuming activities. The time required to perform these activities

in accordance with all regulatory requirements and with highly specialised dispensing equipment, results in a reduction of the final activity for diagnostic testing. For niche markers with low yields and short half-lives, passing these steps is disadvantageous and, in some cases, impossible. Tracers of this type although diagnostically beneficial will not have commercial potential.

Over the past 10 years, the demand for personalised and precision medicine has increased, and the use of radiopharmaceuticals in this field appears to be a promising solution from the point of view of individualised patient treatment, especially in oncology. Technological advances related to molecular imaging using PET technology and the use of isotopic preparations, offer a wide range of possibilities in this field.

The results obtained indicate that, in order to provide opportunities for the development of tracers that are potentially non-commercial and prepared on a small scale, it would be necessary to consider the preparation of such products in hospital units on an 'in-house', using fast and precise equipment adapted to small-scale production.

In addition to technical improvements, the work points to the potential for improved regulation for possible 'in House' manufacturing. The current requirements of the law are difficult to meet for hospital-based nuclear medicine facilities that are state budget units. Therefore, with the support of national pharmaceutical and nuclear regulators for radiopharmaceutical production, new homogeneous standards for hospital radiopharmacy should be developed, providing safety but also flexibility for the preparation of potentially non-commercial and small-scale radiopharmaceuticals with high diagnostic potential on an 'in House' basis.

## 9. Spis tabel

**Tabela 1.** Szczegóły przygotowania modułu syntezy Explora FDG<sub>4</sub>.

**Tabela 2.** Szczegóły przygotowania modułu syntezy Raytest SynChrom R&D.

**Tabela 3.** Szczegóły przygotowania modułu ModularLab – PharmTracer.

**Tabela 4.** Szczegóły przygotowania modułu syntezy Explora AC.

**Tabela 5.** Ilości odczynników użytych do separacji i osuszenia izotopu fluoru <sup>18</sup>F.

**Tabela 6.** Wpływ czasu hydrolizy na czystość chemiczną, radiochemiczną i pH [<sup>18</sup>F]FDG .

**Tabela 7.** Wpływa czasu hydrolizy na wyniki kontroli jakości i procentowy spadek aktywności.

**Tabela 8.** Wpływ ilości PTC oraz czasu destylacji azeotropowej na aktywność odzyskanego izotopu fluoru <sup>18</sup>F.

**Tabela 9.** Wpływ ilości prekursora na wydajność znakowania.

**Tabela 10.** Wpływ użycia strzykawki jednorazowej na wydajność znakowania.

**Tabela 11.** Porównanie warunków utleniania przy użyciu mCPBA.

**Tabela 12.** Porównanie warunków hydrolizy przy użyciu 30% HCl.

**Tabela 13.** Porównanie metod syntezy ([<sup>11</sup>C]-metyl)Choliny.

**Tabela 14.** Wpływ przepływu gazu na wydajność reakcji.

**Tabela 15.** Porównanie użytej szybkości przepływu na wydajność radiochemiczną.

**Tabela 16.** Wpływ ilości dodanej wody na wydajność radiochemiczną.

**Tabela 17.** Wpływ ilości dodanego kwasu na wydajność radiochemiczną.

**Tabela 18.** Porównanie metod syntezy [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.

**Tabela 19.** Wyniki kontroli jakości dla [<sup>18</sup>F]FDG.

**Tabela 20.** Wyniki kontroli jakości dla [<sup>18</sup>F]F-DOPA.

**Tabela 21.** Wyniki kontroli jakości dla ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.

**Tabela 22.** Wyniki kontroli jakości dla [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.



## 10. Spis rycin

**Rycina 1.** Rozkład mas fragmentów rozczepienia.

**Rycina 2.** Cyklotron RDS 111 firmy Siemens.

**Rycina 3.** Wnętrze cyklotronu RDS 111 firmy Siemens.

**Rycina 4.** Podstawowe zasady działania cyklotronu .

**Rycina 5.** Przykłady cząstek przyśpieszonych w cyklotronach oraz ich reakcje jądrowe.

**Rycina 6.** Izotopy produkowane w cyklotronie.

**Rycina 7.** Graficzne przedstawienie siły Lorentza.

**Rycina 8.** Przedstawienie siły Lorentza w cyklotronie.

**Rycina 9.** Przykłady radionuklidów stosowanych w medycynie.

**Rycina 10.** Mechanizm gromadzenia [ $^{18}\text{F}$ ]FDG w komórce – pułapka molekularna.

**Rycina 11.** Metabolizm L-DOPA przez AADC.

**Rycina 12.** Schemat zaniku pozytonów i anihilacja.

**Rycina 13.** Okno koincydencji.

**Rycina 14.** Schemat postępowanie w trakcie prowadzenia badań.

**Rycina 15.** Konfiguracja modułu syntezy Explora FDG<sub>4</sub>.

**Rycina 16.** Konfiguracja modułu Raytest SynChrom R&D do syntezy [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA.

**Rycina 17.** Konfiguracja modułu modułu ModularLab – PharmTracer do syntezy ([ $^{11}\text{C}$ ]-metyl) Choliny.

**Rycina 18.** Konfiguracja modułu Explora AC do syntezy [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ] Octan Sodiu.

**Rycina 19.** Synteza [ $^{18}\text{F}$ ]FDG przy użyciu triflatu mannozy.

**Rycina 20.** Synteza [ $^{18}\text{F}$ ]F – DOPA przy użyciu prekursora ABX 1336.

**Rycina 21.** Synteza ([ $^{11}\text{C}$ ]-metyl) Choliny przy użyciu DMAE.

**Rycina 22.** Synteza [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ] Octanu Sodiu przy użyciu odczynnika Grignarda.

**Rycina 22.** Wpływ czasu hydrolizy na czystość radiochemiczną [ $^{18}\text{F}$ ]FDG: mierzona ilość [ $^{18}\text{F}$ ]FDG przy użyciu metody TLC.

**Rycina 23.** Wpływ czasu hydrolizy na czystość radiochemiczną [ $^{18}\text{F}$ ]FDG: mierzona ilość acetylo-[ $^{18}\text{F}$ ]FDG przy użyciu metody TLC.

**Rysunek 14.** Wpływ czasu hydrolizy na czystość radiochemiczną [<sup>18</sup>F]FDG: mierzona ilość [<sup>18</sup>F]FDG przy użyciu metody HPLC.

**Rysunek 25.** Wpływ czasu hydrolizy na czystość radiochemiczną [<sup>18</sup>F]FDG: mierzona ilość CIDG przy użyciu metody HPLC.

**Rycina 26.** Wpływ czasu hydrolizy na pH [<sup>18</sup>F]FDG.

**Rycina 27.** Nieoczyszczony reaktor po procedurze automatycznego czyszczenia.

**Rycina 28.** Nieoczyszczone mieszadło magnetyczne po procedurze automatycznego czyszczenia.

**Rycina 29.** Modyfikacje modułu syntezy Raytest SynChrom R&D.

**Rycina 30.** Pik związku pobocznego przy zastosowaniu za małej ilości mCPBA

**Rycina 31.** Pik związku pobocznego przy zastosowaniu za dużej ilości mCPBA

**Rycina 32.** Prawidłowo dobrana ilość mCPBA.

**Rycina 33.** Etap utleniania prowadzony w podwyższonej temperaturze.

**Rycina 34.** Zanieczyszczenie powstające przy małej objętości dodanej wody.

**Rycina 35.** Czas rozlewu [<sup>18</sup>F]FDG na różnych typach dyspenserów.

**Rycina 36.** Czas rozlewu [<sup>18</sup>F]DOPA na różnych typach dyspenserów.

**Rycina 37.** Czas rozlewu ([<sup>11</sup>C]-metyl) Choliny na różnych typach dyspenserów.

**Rycina 38.** Czas rozlewu [1-<sup>11</sup>C]Octanu Sodiu na różnych typach dyspenserów.

**Rycina 39.** Czystość radiochemiczna HPLC [<sup>18</sup>F]FDG.

**Rycina 40.** Czystość chemiczna (HPLC) [<sup>18</sup>F]FDG.

**Rycina 41.** Pozostałości rozpuszczalników (GC) [<sup>18</sup>F]FDG.

**Rycina 42.** Czystość radiochemiczna (TLC) [<sup>18</sup>F]FDG.

**Rycina 43.** Czystość i tożsamość radionuklidowa (MUCHA) [<sup>18</sup>F]FDG.

**Rycina 44.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody I oznaczania endotoksyn oraz GC dla [<sup>18</sup>F]FDG

**Rycina 45.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody II oznaczania endotoksyn oraz GC dla [<sup>18</sup>F]FDG.

**Rycina 46.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości bez oznaczania endotoksyn oraz GC dla [<sup>18</sup>F]FDG.

**Rycina 47.** Czystość radiochemiczna (HPLC) [<sup>18</sup>F]F-DOPA.

**Rycina 48.** Czystość chemiczna (HPLC) [<sup>18</sup>F]F-DOPA.

- Rycina 49.** Czystość enancjomeryczna (HPLC) [<sup>18</sup>F]F-DOPA.
- Rycina 50.** Pozostałości rozpuszczalników (GC) [<sup>18</sup>F]F-DOPA.
- Rycina 51.** Czystość radiochemiczna (TLC) [<sup>18</sup>F]F-DOPA.
- Rycina 52.** Czystość i tożsamość radionuklidowa (MUCHA) [<sup>18</sup>F]F-DOPA.
- Rycina 53.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody I oznaczania endotoksyn oraz GC dla [<sup>18</sup>F]F-DOPA.
- Rycina 54.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody II oznaczania endotoksyn oraz GC dla [<sup>18</sup>F]F-DOPA.
- Rycina 55.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości bez oznaczania endotoksyn oraz GC dla [<sup>18</sup>F]F-DOPA.
- Rycina 56.** Czystość radiochemiczna (HPLC) ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.
- Rycina 57.** Pozostałości rozpuszczalników (GC) ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.
- Rycina 58.** Czystość i tożsamość radionuklidowa (MUCHA) ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.
- Rycina 59.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody I oznaczania endotoksyn oraz GC dla ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.
- Rycina 60.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody II oznaczania endotoksyn oraz GC dla ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.
- Rycina 61.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości bez oznaczania endotoksyn oraz GC dla ([<sup>11</sup>C]-metyl)Cholina.
- Rycina 62.** Czystość radiochemiczna (HPLC) [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.
- Rycina 63.** Czystość chemiczna (HPLC) [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.
- Rycina 64.** Pozostałości rozpuszczalników (GC) [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.
- Rycina 65.** Tożsamość i czystość radionuklidowa (MUCHA) [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.
- Rycina 66.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody I oznaczania endotoksyn oraz GC dla [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.
- Rycina 67.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości z zastosowaniem metody II oznaczania endotoksyn oraz GC dla [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.
- Rycina 68.** Czas potrzebny na wykonanie Kontroli Jakości bez oznaczania endotoksyn oraz GC dla [1-<sup>11</sup>C]Octan Sodu.
- Rycina 69.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [<sup>18</sup>F]FDG na dispenserze Clio (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.
- Rycina 70.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [<sup>18</sup>F]FDG na dispenserze Theodorico (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 71.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [ $^{18}\text{F}$ ]FDG na dyspenserze Clio (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 72.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [ $^{18}\text{F}$ ]FDG na dyspenserze Althea (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 73.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA na dyspenserze Clio (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 74.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA na dyspenserze Theodorico (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 75.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA na dyspenserze Clio (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 76.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA na dyspenserze Althea (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 77.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania ([ $^{11}\text{C}$ ]-metyl)Cholina na dyspenserze Clio (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 78.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania ([ $^{11}\text{C}$ ]-metyl)Cholina na dyspenserze Theodorico (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 79.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania ([ $^{11}\text{C}$ ]-metyl)Cholina na dyspenserze Clio (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 80.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania ([ $^{11}\text{C}$ ]-metyl)Cholina na dyspenserze Althea (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 81.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ] Octan Sodu na dyspenserze Clio (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 82.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ] Octan Sodu na dyspenserze Theodorico (fiolki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 83.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ] Octan Sodu na dyspenserze Clio (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

**Rycina 84.** Czas i całkowity spadek aktywności w trakcie przygotowania [ $1\text{-}^{11}\text{C}$ ] Octan Sodu na dyspenserze Althea (strzykawki) przy zastosowaniu trzech konfiguracji QC.

## 11. Spis skrótów

SPECT – tomografia emisyjna pojedynczego fotonu (ang. single-photon emission computed tomography)

eV – elektronowolt

LET- liniowy współczynnik przenoszenia energii (ang. linear energy transfer)

VEGF - czynnik wzrostu śródbłonna naczyń ( ang. vascular endothelial growth factor)

HIF1 $\alpha$  - czynnik transkrypcyjny indukowany hipoksją (ang. hypoxia inducible factor 1  $\alpha$ )

GLUT 1 - błonowy transporter glukozy 1 - (ang. glucose transporter 1)

PET – pozytonowa emisyan tomografia (ang. positron emission tomography)

CT – tomografia komputerowa (ang. computed tomography)

[<sup>18</sup>F]FDG - 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoksy-glukoza

[<sup>18</sup>F]F-DOPA - [<sup>18</sup>F]6-fluoro-3,4-dihydroksy-L-fenylalanina

AAAD - aromatyczna dekarboksylaza L-aminokwasów

[<sup>18</sup>F]FDA - [<sup>18</sup>F]fluorodopamina

LOR - linią zdarzenia (ang. line of response)

MR – rezonans magentyczny (ang. magnetic resonance)

SPE – ekstrakcja do fazy stałej (ang. Solid-phase extraction )

MeCN – acetonitryl

TSU – jednostka podtrzymywania tarczy (ang. Target Support Unit)

EOB – koniec bombardowania materiału tarczy w cyklotronie (ang. end of bombarding)

TBAHCO<sub>3</sub> - wodorowęglan tetrabutylamoniowy (ang. tetrabutylammonium hydrogen carbonate )

mCPBA – kwas m-chloroperoksybenzoesowy

HRP – kolumna hydrofobowa o odwróconej fazie (ang. Hydrophobic Reversed-Phase )

C18 – kolumna ze złożem krzemionkowym

DMAE - dimetyloamino etanol

LAL – endotoksyny bakteryjne (ang. Limulus amebodyte lysate)

BPT – test integralności (ang.bubble point test)

CIDG - 2-choloro-2-deoksy-D-glukozy

TSB – bulion trytozowo-sojowy

THIO - bulion tioglikolanowy z resazuryną

RCY – wydajność radiochemiczna (ang. radiochemical corrected yield)

RCP – czystość radiochemiczna (ang. radiochemical purity)

PTC – katalizator przejścia fazowego (ang. phase transfer catalyst)

ee – czystość enancjomeryczna

THF – tetrahydrofuran

QP – osoba wykwalifikowana

## 12. Bibliografia

1. Świątaszczyk C. Medycyna nuklearna – wprowadzenie do diagnostyki i terapii Radioizotopowej, wyd.II, 2018; 60-61, 67-73, 113-120,
2. Pedroso de Lima J.J. Nuclear Medicine Physics Series in Medical Physics and Biomedical Engineering, Series in Medical and Biomedical Engineering, CRC Press, USA 2011
3. Pruszyński, B. Diagnostyka obrazowa. Podstawy teoretyczne i metodyka badań, Wydawnictwo lekarskie PZWL, Warszawa, 2000r., 471-505.
4. Nowak. S.; Rudzki. K.; Piętka. E.; Czech. E. Zarys medycyny nuklearnej, Wydawnictwo lekarskie PZWL, Warszawa, 1998; 17-18, 43-47.
5. Dobrzynski. L. Produkcja radionuklidów, Wykłady akademickie, Warszawa 2013
6. Jastrzebski, J. Radioactive nuclei for medical applications, Acta Phys. Pol. B, 2012,43,193
7. Production technologies for molybdenum-99 and technetium-99m;IAEA, VIENNA, 1999; IAEA-TECDOC-1065 ISSN 1011^289
8. Birkenfeld. B.; Listewnik. M. Medycyna nuklearna. Obrazowanie Molekularne, Wydawnictwo Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego, Szczecin, 2011; 207-2019.
9. Dash. A.; Chakravarty. R. Radionuclide generators: the prospect of availing PET radiotracers to meet current clinical needs and future research demands, Am J Nucl Med. Mol Imaging, 2019; 9(1), 30-66.
10. Dash. A.; Knapp. F. 99Mo/99mTc separation: An assessment of technology options, Nuclear Medicine and Biology, 2013; 40(2), 167-176.
11. Scharf. W. Akceleratory cząstek naładowanych zastosowanie w nauce i technice, PWN, Warszawa 1989; ISBN 83-01-08696-3
12. <http://www.if.pw.edu.pl/~pluta/pl/dyd/mtj/zal4/Cyklotron/cyklotron.htm>
13. Scholten. C.; Petrosova. L.; Van de Veen. G. Medical isotope production using local cyclotrons A comparative study between Denmark and the Netherlands, January 2022

14. International Atomic Energy Agency, Cyclotron Produced Radionuclides: Physical Characteristics And Production Methods, Technical Report Series No. 468, Vienna 2009
15. Alternative radionuclide production with a cyclotron; International Atomic Energy Agency; VIENNA, 2021
16. <http://www.voxel.pl/radiofarmaceutyki>
17. Materiały edukacyjne Narodowego Centrum Badań Jądrowych, podstawy fizyczne medycyny nuklearnej prof. Ludwika Dobrzyńskiego 2013
18. Kambali 2019 J. Phys.: Conf. Ser. 1153 012106
19. [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/8/8c/Lorentz\\_force.svg/2000px-Lorentz\\_force.svg.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/8/8c/Lorentz_force.svg/2000px-Lorentz_force.svg.png)
20. <http://ilf.fizyka.pw.edu.pl/podrecznik/3/3/3?type=accessible>
21. Cyclotron produced radionuclides: principles and practice; International Atomic Energy Agency; VIENNA, 2008
22. Cyclotron produced radionuclides: physical characteristics and production methods; International Atomic Energy Agency; VIENNA,, 2009
23. <http://www.slcyj.uw.edu.pl/pet/petuw-pl.htm>
24. <http://encyklopedia.pwn.pl/haslo/akcelerator-czastek-naladowanych;3866817.html>
25. Walczak. R.; Halik. P.; Gawęda. W.; Dziawer. Ł.; Gumieła. M. Radiofarmaceutyki w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej; PTJ VOL. 61 Z. 2 2018
26. Zalutsky M. First Co-ordination meeting of the Co-ordinated research programme „Comparative Evaluation of therapeutic Radiopharmaceuticals” 14-17 October 2002, Bucharest, Romania
27. Wykład: Dr hab. Renata Mikołajczak, prof. NCBJ., Radioizotopy w medycynie, 17 grudnia 2015, Narodowe Centrum Badań Jądrowych Ośrodek Radioizotopów POLATOM
28. Ballinger James R. Pet Radiopharmaceuticals: Chemical, Biological, and Clinical Data, 2022, Springer Nature



29. Mikołajczak. R. Zastosowanie radioizotopów w diagnostyce i terapii, Seminarium Zakładu Spektroskopii Jądrowej, Uniwersytet Warszawski, Warszawa 2009
30. Piciu. D. Endokrynologia nuklearna, Radiofarmaceutyki, Wydawnictwo Medyczne MediPage, wyd. 1, Warszawa 2015
31. Toth. Z.; Przedlacki. J. Medycyna nuklearna, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa, 1983; 18-29,57-62, 201-202.As
32. Wallner P. E. „Naked” radiopharmaceuticals, International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, 2006r., 66(2), 60-61.
33. Easton. S.; Sąsiadek. M. Radiografia. Podręcznik dla techników elektroradiologii, Elsevier Urban & Partner, Wrocław, 2009; 186-188.
34. Kasperek-Nowakiewicz. R. Radiofarmaceutyki w leczeniu, Aptekarz Polski, 14/05/2020
35. Malenda. A.; Nowis. D.A. „Znaczenie metabolizmu glukozy w diagnostyce oraz terapii nowotworów układów krwiotwórczego i chłonnego”, Hematologia 2013, tom 4, nr 3, s.227–238
36. Szala. S. „Angiogeneza i immunosupresja: jin i jang progresji nowotworów?”, Postępy Hig Med Dosw. (online), 2009; 63: s.598-612
37. Szala. S.; Jarosz. M. „Nowotworowe naczynia krwionośne”, Postępy Hig Med Dosw (online), 2011; 65: s.437-446
38. Józwiak. P.; Lipińska. A. „Rola transportera glukozy 1 (GLUT1) w diagnostyce i terapii nowotworów”, Postępy Hig Med Dosw (online), 2012; 66: s.165-174
39. Ganapathy. V.; Thangaraju. M.; Prasad. P.D. Nutrient transporters in cancer: relevance to Warburg hypothesis and beyond; Pharmacol. Ther., 2009; 121: s.29–40
40. Ferreira L.M.R.: Cancer metabolism: the Warburg effect today. Exp. Mol. Pathol., 2010; 89: s. 372–380
41. Dudziak. K.; Regulska-Ilow. B. „Znaczenie ładunku glikemicznego diety w rozwoju chorób nowotworowych”, Postępy Hig Med Dosw, 2013; 67: s. 449-462

42. Izuishi. K.; Yamamoto. Y.; Mori. H.; Kameyama. R.; Fujihara. S.; Masaki. T.; Suzuki. Y. „Molecular mechanisms of [18F]fluorodeoxyglucose accumulation in liver cancer”, *Onkology Reports* 2014; 31: s. 701-706
43. Calabria, F.; Schillaci, O. *Radiopharmaceuticals: A Guide to PET/CT and PET/MRI*, 2019 Springer
44. Garnett. E.; Firnau. G.; Nahmias. C. Dopamine visualized in the basal ganglia of living man. *Nature* 305, 137–138 (1983)
45. Ernst. M.; Zametkin. A.J.; Matochik. J. A.; Pascualvaca. D.; Jons. P. H.; Hardy. K.; Hankerson. J. G.; Doudet. D. J.; Cohen. R. M. Presynaptic dopaminergic deficits in Lesch-Nyhan disease. *The New England journal of medicine*, 1996; 334(24), 1568–1572.
46. Karaman. R. Prodrugs design based on inter- and intramolecular chemical processes. *Chemical biology & drug design*, 2013; 82(6), 643–668
47. Snow, B.J.; Tooyama, I.; McGeer. E.G.; Yamada. T.; Calne D.B.; Takahashi. H.; Kimura, H. Human positron emission tomographic [18F]fluorodopa studies correlate with dopamine cell counts and levels. *Annals of neurology*, 1993;34(3), 324–330.
48. Hietala. J.; Syvälahti. E.; Vuorio. K. Presynaptic dopamine function in striatum of neuroleptic-naive schizophrenic patients. *Lancet (London, England)*. 1995 Oct;346(8983):1130-1131
49. Brown. W. D.; Oakes. T. R.; DeJesus. O. T.; Taylor. M. D.; Roberts. A. D.; Nickles. R. J.; Holden. J.E. Fluorine-18-fluoro-L-DOPA dosimetry with carbidopa pretreatment. *Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine*, 1998;39(11), 1884–1891.
50. Garnett. E.S.; Firnau. G.; Nahmias, C. Dopamine visualized in the basal ganglia of living man. *Nature* 1983, 305, 137–138. <https://doi.org/10.1038/305137a0>.
51. Fischman, A.J. Role of [18F]-dopa-PET imaging in assessing movement disorders. *Radiol Clin North Am Radiol. Clin.* 2005, 43, 93–106. <https://doi.org/10.1016/j.rcl.2004.08.002>.
52. Darcourt, J.; Schiazza, A.; Sapin, N.; Dufour, M.; Ouvrier, M.J.; benisvy, D.; Fontana, X.; Koulibaly, P.M. 18F-FDOPA PET for the diagnosis of parkinsonian syndromes. *Q. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2014, 58, 355–365. PMID: 25366711.

53. Groves, A.M.; Win, T.; Haim, S.B.; Ell, P.J. Non-[18F]FDG PET in clinical oncology. *Lancet Oncol.* 2007; 8, 822–830. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(07\)70274-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(07)70274-7).
54. Seibyl, J.P.; Chen, W.; Silverman, D.H. 3,4-Dihydroxy-6-[18F]fluoro-L-phenylalanine positron emission tomography in patients with central motor disorders and in evaluation of brain and other tumors. *Semin. Nucl. Med.* 2007, 37, 440–450. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2007.08.002>.
55. Jager, P.L.; Chirakal, R.; Marriott, C.J.; Brouwers, A.H.; Koopmans, K.P.; Gulenchyn, K.Y. 6-L-18F-fluorodihydroxyphenylalanine PET in neuroendocrine tumors: Basic aspects and emerging clinical applications. *J. Nucl. Med.* 2008, 49, 573–586. <https://doi.org/10.2967/jnumed.107.045708>.
56. O'Brien, S.R.; States, L.J.; Zhuang, H. Neuroblastoma Shown on 18F-DOPA PET/CT Performed to Evaluate Congenital Hyperinsulinism. *Clin. Nucl. Med.* 2021, 46, 927–928. <https://doi.org/10.1097/rlu.0000000000003689>.
57. Piccardo, A.; Lopci, E. Potential role of 18F-DOPA PET in neuroblastoma. *Clin. Transl. Imaging* 2016, 4, 79–86. <https://doi.org/10.1007/s40336-016-0162-2>.
58. Cornford, E. M.; Braun, L. D.; Oldendorf, W. H. Carrier mediated blood-brain barrier transport of choline and certain choline analogs. *Journal of neurochemistry*, 1978; 30(2), 299–308. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1978.tb06530.x>
59. Katz-Brull, R.; Degani, H. Kinetics of choline transport and phosphorylation in human breast cancer cells; NMR application of the zero trans method. *Anticancer research*, 1996; 16(3B), 1375–1380.
60. Vallabhajosula S. 18F-labeled positron emission tomographic radiopharmaceuticals in oncology: an overview of radiochemistry and mechanisms of tumor localization. *Seminars in nuclear medicine*, 2017; 37(6), 400–419. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2007.08.004>
61. Ramírez de Molina, A.; Rodríguez-González, A.; Gutiérrez, R.; Martínez-Pieiro, L.; Sánchez, J.J.; Bonilla, F. Overexpression of choline kinase is a frequent feature in human tumor-derived cell lines and in lung, prostate, and colorectal human cancers *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 296 (2002), pp. 580-583

62. Kolthammer J.; Corn D.; Tenley N. PET imaging of hepatocellular carcinoma with 18F-fluoroethylcholine and 11C-choline. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* (2011) 38:1248–1256
63. Sutinen, E.; Nurmi, M.; Roivainen, A.; Varpula, M.; Tolvanen, T.; Lehikoinen, P.; Minn, H. Kinetics of [11C]choline uptake in prostate cancer: a PET study. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 2004; 31(3), 317–324. <https://doi.org/10.1007/s00259-003-1377-9>
64. Tolvanen, T.; Yli-Kerttula, T.; Ujula, T.; Autio, A.; Lehikoinen, P.; Minn, H.; Roivainen, A. Biodistribution and radiation dosimetry of [(11)C]choline: a comparison between rat and human data. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 2010; 37(5), 874–883. <https://doi.org/10.1007/s00259-009-1346-z>
65. Grassi, I.; Nanni, C.; Allegri, V.; Morigi, J. J.; Montini, G. C.; Castellucci, P.; Fanti, S. The clinical use of PET with (11)C-acetate. *American journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 2012, 2(1), 33–47.
66. Randle, P. J.; England, P. J.; Denton, R. M. Control of the tricarboxylate cycle and its interactions with glycolysis during acetate utilization in rat heart. *The Biochemical journal*, 1970;117(4), 677–695.
67. Swinnen, J. V.; Heemers, H.; Deboel, L.; Fougelle, F.; Heyns, W.; Verhoeven, G. Stimulation of tumor-associated fatty acid synthase expression by growth factor activation of the sterol regulatory element-binding protein pathway. *Oncogene*, 2000; 19(45), 5173–5181. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1203889>
68. Brown, M.; Marshall, D. R.; Sobel, B. E.; Bergmann, S. R. Delineation of myocardial oxygen utilization with carbon-11-labeled acetate. *Circulation*, 1987; 76(3), 687–696. <https://doi.org/10.1161/01.cir.76.3.687>
69. Park, J. W.; Kim, J. H.; Kim, S. K.; Kang, K. W.; Park, K. W.; Choi, J. I.; Lee, W. J.; Kim, C. M.; Nam, B. H. A prospective evaluation of 18F-FDG and 11C-acetate PET/CT for detection of primary and metastatic hepatocellular carcinoma. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 2008;49(12), 1912–1921. <https://doi.org/10.2967/jnumed.108.055087>

70. Oyama, N.; Okazawa, H.; Kusakawa, N.; Kaneda, T.; Miwa, Y.; Akino, H.; Fujibayashi, Y.; Yonekura, Y.; Welch, M. J.; Yokoyama, O. <sup>11</sup>C-Acetate PET imaging for renal cell carcinoma. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 2009; 36(3), 422–427. <https://doi.org/10.1007/s00259-008-0981-0>
71. Ruangma, A. „FDG-PET and FDG production at Wattanosoth Hospital”, *The Bangkok Medical Journal*; 2013, Vol. 5 s. 80 – 90
72. Cherry, S.R.; Sorensen, J.A.; Phelps, M.E. *Physics in Nuclear Medicine*. Orlando, FL: Grune & Stratton, Inc.; (2003).
73. Valk, P.E.; Bailey, D.E.; Townsend, D.W.; Maisey, M.N.; *Positron Emission Tomography: Basic Science and Clinical Practice*. London: Springer-Verlag; 2003.
74. Miller, P.; Long, N.; Vilar, R.; Gee, A. Synthesis of <sup>11</sup>C, <sup>18</sup>F, <sup>15</sup>O, and <sup>13</sup>N Radiolabels for Positron Emission Tomography. *Angewandte Chemie International Edition*, 2008; 47: 8998-9033. <https://doi.org/10.1002/anie.200800222>
75. Wernick, M.N.; Aarsvold, J.N. *Emission Tomography*. San Diego, CA: Elsevier Academic Press; 2004.
76. Alessio, A.M.; Kinahan, P.E.; Cheng, P.M.; Vesselle, H.; Karp, J.S. PET/CT scanner instrumentation, challenges, and solutions. *Radiol Clin N Am*. 2004;42(6):1017-32.
77. Sibylle I. Ziegler, „Positron Emission Tomography: Principles, Technology, and Recent Developments”, *Nuclear Physics* , 2005, s. 679c–687c
78. [https://flc.desy.de/pet/intro/index\\_eng.html](https://flc.desy.de/pet/intro/index_eng.html)
79. Goldman, L. „Principles of CT and CT Technology”, *Journal of Nuclear Medicine Technology*, 2007, Vol 25, No.3 s. 115-128
80. Vogel, W.V.; Wim, J.G.; Barentsz, J.O.; Kaanders, J.; Corstens, F. „PET/CT: Panacea, Redundancy, or Something in Between?”, *The Journal of Nuclear Medicine*, 2004;45: s.15S-24S
81. Gibby, W.A. „Basic principles of magnetic resonance imaging”, *Neurosurgery Clinics of North America*, 2005, Vol. 16 s. 1-64

82. Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 28 kwietnia 2022 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie wymagań Dobrej Praktyki Wytwarzania Dz.U. 2022 poz. 1273
83. Farmakopea polska wydanie XII, 2020
84. Farmakopea europejska wydanie X, 2020
85. Ustawy z dnia 29 listopada 2000 Prawo Atomowe
86. Waki A., Fujibayashi Y., Magata Y., Yokoyama A., Sadato N. et al.: Glucose transporter protein-independent tumor cell accumulation of fluorine-18-AFDG, a lipophilic fluorine-18-FDG analog. *J. Nucl. Med.* 39 (2), 245 (1998).
87. Wagner, F.M.; Ermert, J.; Coenen, H.H. Three-Step, "One-Pot" Radiosynthesis of 6-Fluoro-3,4-Dihydroxy-L-Phenylalanine by Isotopic Exchange, *J Nucl Med* 2009; 50:1724–1729. <https://doi.org/10.2967/jnumed.109.063297>
88. Meléan, J.C.; Ermert J.; Coenen, H.H. Enantiospecific synthesis of 2-[18F]fluoro-L-phenylalanine and 2-[18F]fluoro-L-tyrosine by isotopic exchange *Org. Biomol. Chem.*, 2011,9, 765-769. <https://doi.org/10.1039/C0OB00440E>
89. Pretze, M.; Franck, D.; Kunkel, F.; Foßhag, E.; Wängler, C.; Wängler, B. Evaluation of two nucleophilic syntheses routes for the automated synthesis of 6-[18F]fluoro-L-DOPA, *J Med Biol.* 2017 Feb;45:35-42. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2016.10.007>
90. Hoepping, Alexander, Müller Marco, Smits René, Mollitor Jan, Clausnitzer Andreas, Baumgart Diana, 2014, Precursors and process for the production of 18F-labelled amino acids, EP 2 746 250 A1
91. Sauvage, C.; Lazarova, N.; Goblet, D.; Mueller, M. Synthesis of 18F-L-FDOPA via Nucleophilic Pathway on IBA's Synthera, Poster: ISRS 2015 MAY 25th-31st Columbia, Missouri
92. Martin, R.; Baumgart, D.; Huebner, S.; Juettler, S.; Saul, S.; Clausnitzer, A.; Mollitor, J.; Smits, R.; Hoepping, A.; Mueller, M. Automated nucleophilic one-pot synthesis of F-18-L-DOPA with high specific activity using the GE TRACERlab MXFDG, May 2013 *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* 56:S126-S126

93. Huang, Y.Y.; Poniger, S.; Tsai, C.L.; Tochon-Danguy, H.J.; Ackermann, U.; Yen, R.F. Three-step two-pot automated production of NCA [ $^{18}\text{F}$ ]FDOPA with FlexLab module. *Appl Radiat Isot* 2020 Apr;158:108871. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2019.108871>
94. Rene-Martin, B.D.; Huebner, S.; Juettler, S.; Saul, S.; Clausnitzer, A.; Mollitor, J.; Smits, R.; Hoeppling, A.; Mueller, M. First SPE method for routine production of nucleophilic L- [ $^{18}\text{F}$ ]FDOPA. *J Label Compd Radiopharm*. 2013;56:S126.
95. Shao, X.; Hockley, B.G.; Hoareau, R.; Schnau, P.L.; Scott, P.J. Fully automated preparation of [ $^{11}\text{C}$ ]choline and [ $^{18}\text{F}$ ]fluoromethylcholine using TracerLab synthesis modules and facilitated quality control using analytical HPLC. *Appl Radiat Isot*. 2011 Feb;69(2):403-9. doi: 10.1016/j.apradiso.2010.09.022. Epub 2010 Oct 13. PMID: 21115355.
96. Reischl, G.; Bieg, C.; Schmiedl, O.; Solbach, C.; Machulla, H.J. Highly efficient automated synthesis of [(11)C]choline for multi dose utilization. *Appl Radiat Isot*. 2004 Jun;60(6):835-8. doi: 10.1016/j.apradiso.2004.01.006. PMID: 15110347.
97. Kuznetsova, O.F.; Fedorova, O.S.; Vasil'ev, D.A. Preparation and Quality Control of [N-Methyl- $^{11}\text{C}$ ]choline for Routine PET Application. *Radiochemistry* 45, 377–381 (2003). <https://doi.org/10.1023/A:1026113604743>
98. Szydło, M.; Jadwiński, M.; Chmura, A.; Gorczewski, K.; Sokół, M. Synthesis, isolation and purification of [(11)C]-choline. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2016;20(3):229-36. doi: 10.5114/wo.2016.61566. Epub 2016 Aug 4. PMID: 27660552; PMCID: PMC5013686.
99. Szydło, M.; Chmura, A.; Kowalski, T.; Pocięgiel, M.; d'Amico, A.; Sokół, M. Optimisation of [ $^{11}\text{C}$ ]choline synthesis. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2018;22(4):260-265. doi: 10.5114/wo.2018.81751. Epub 2018 Dec 31. PMID: 30783391; PMCID: PMC6377417.
100. Nagren, K.; Halldin, C. Methylation of amide and thiol functions with [ $^{11}\text{C}$ ]methyl triflate, as exemplified by [ $^{11}\text{C}$ ]NMSP, [ $^{11}\text{C}$ ]Flumazenil and [ $^{11}\text{C}$ ]Methionine. *J Label Compds Radiopharm*, 1998; 41:831–841
101. Nagren, K.; Müller, L.; Halldin, C.; Swahn, C.G.; Lehtikoinen, P. Improved synthesis of some commonly used PET radioligands by the use of [ $^{11}\text{C}$ ]methyl triflate. 1995; *Nucl Med Biol* 22:235–239

102. Nagren, K.; Halldin, C.; Muller, L.; Swahn, C.G.; Lehtikoinen, P. Comparison of [11C]methyl triflate and [11C]methyl iodide in the synthesis of PET radioligands such as [11C]beta-CIT and [11C]beta-CFT. 1995; Nucl Med Biol 22:965–979
103. Lundkvist, C.; Sandell, J.; Nagren, K.; Pike, V.W.; Halldin, C. Improved synthesis of the PET radioligands [11C]FLB 457, [11C]MDL 100907 and [11C]β- CIT-FE, by the use of [11C]methyl triflate. J Label Compds Radiopharm, 1998 41:545–556
104. O’Dwyer, C.; Yaworski, R.; LeBlond, N.D.; Ghorbani, P.; Nunes, J.; Margison, K.; Smith, T.; Gobeil Odai, K.; Han, S.; Morgan D. FullertoFatty acid-induced lipotoxicity inhibits choline metabolism independent of ER stress in mouse primary hepatocytes n bioRxiv 746750; doi: <https://doi.org/10.1101/746750>
105. Shipkowski, K.A.; Sanders, J.M.; McDonald, J.D.; Garner, C.E.; Doyle-Eisele M.; Wegerski, C.J.; Waidyanatha, S. Comparative disposition of dimethylaminoethanol and choline in rats and mice following oral or intravenous administration. Toxicol Appl Pharmacol. 2019 Sep 1;378:114592. doi: 10.1016/j.taap.2019.05.011. Epub 2019 May 14. PMID: 31100288; PMCID: PMC7252906.
106. Fisher, M.C.; Zeisel, S.H.; Mar, M.H.; Sadler, T.W. Perturbations in choline metabolism cause neural tube defects in mouse embryos in vitro. FASEB J. 2002 Apr;16(6):619-21. doi: 10.1096/fj.01-0564fje. PMID: 11919173.
107. Moerlein, S.; Gaehle, G.; Welch, M. Robotic preparation of Sodium Acetate C 11 Injection for use in clinical PET, Nuclear Medicine and Biology, Volume 29, Issue 5, 2002, Pages 613-621, ISSN 0969-8051, [https://doi.org/10.1016/S0969-8051\(02\)00307-4](https://doi.org/10.1016/S0969-8051(02)00307-4).
108. Soloviev, D.; Tamburella, C. Captive solvent [11C]acetate synthesis in GMP conditions, Applied Radiation and Isotopes, Volume 64, Issue 9, 2006, Pages 995-1000, ISSN 0969-8043, <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2006.04.011>.
109. Roeda, D.; Dollé, F.; Crouzel, C. An improvement of [11C]acetate synthesis—non-radioactive contaminants by irradiation-induced species emanating from the [11C]carbon dioxide production target, Applied Radiation and Isotopes, Volume 57, Issue 6, 2002, Pages 857-860, ISSN 0969-8043, [https://doi.org/10.1016/S0969-8043\(02\)00224-5](https://doi.org/10.1016/S0969-8043(02)00224-5).



110. Kruijer, P.; Ter Linden, T.; Mooij, R.; Visser, F.; Herscheid, J. A practical method for the preparation of [11C]acetate, *Applied Radiation and Isotopes*, Volume 46, Issue 5, 1995, Pages 317-321, ISSN 0969-8043, [https://doi.org/10.1016/0969-8043\(95\)00008-2](https://doi.org/10.1016/0969-8043(95)00008-2).
111. Jang, H.Y.; Kwon, S.Y.; Pyo, A.; Hur, M.G.; Kim, S.W.; Park, J.H.; Kim, H.J.; Yang, S.D.; Lee, S.; Kim, D.Y.; Min, J.J. In-house development of an optimized synthetic module for routine [11C]acetate production. *Nucl Med Commun.* 2015 Jan;36(1):102-6. doi: 10.1097/MNM.0000000000000213.
112. Berridge, M.S.; Cassidy, E.H.; Miraldi, F. [11C]acetate and [11C]methionine: Improved syntheses and quality control, *Applied Radiation and Isotopes*, Volume 46, Issue 3, 1995, Pages 173-175, ISSN 0969-8043, [https://doi.org/10.1016/0969-8043\(94\)00133-K](https://doi.org/10.1016/0969-8043(94)00133-K).
113. Obwieszczenia ministra zdrowia z 22 grudnia 2014 r. w sprawie ogłoszenia wykazu wzorcowych procedur radiologicznych z zakresu medycyny nuklearnej (Dz.Urz.Min.Zdrow. z 2014 r. poz. 82)
114. Noda, K.; Goto, H.; Murakami, Y.; Ahmed, A.B.F.; Kuroda, A. Endotoxin assay by bioluminescence using mutant firefly luciferase. *Anal. Biochem.* 2010, 397, 152–155
115. Sharma, S.; Mittal, B.R.; Vatsa, R.; Singh, B. Gel clot bacterial endotoxin test of FDG: Indian scenario. *Indian J Nucl Med.* 2011 Jul;26(3):149-52. doi: 10.4103/0972-3919.103998. PMID: 23326067; PMCID: PMC3543581.
116. Ha, N.S.; Sadeghi, S.; Van Dam, R.M. Recent Progress toward Microfluidic Quality Control Testing of Radiopharmaceuticals. *Micromachines* 2017, 8, 337. <https://doi.org/10.3390/mi8110337>
117. Ovdichuk, O.; Mallapura, H.; Pineda, F.; Hourtané, V.; Långström, B.; Halldin C.; Nag, S.; Maskali, F.; Karcher, G.; Collet, C. Implementation of iMiDEV, a new fully automated microfluidic platform for radiopharmaceutical production. *Lab on a Chip*, 2021; 21(11): 2272–2282.
118. Lemaire, C.; Gillet, S.; Guillouet, S.; Plenevaux, A.; Aerts, J.; Luxen, A. Highly Enantioselective Synthesis of No-Carrier-Added 6-[18F]Fluoro-L-dopa by Chiral Phase-Transfer Alkylation. *Eur J Org Chem.* 2004;13:2899–904.

119. Libert, L.C.; Franci, X.; Plenevaux, A.R.; Ooi, T.; Maruoka, K.; Luxen, A.J. Production at the curie level of no-carrier-added 6-<sup>18</sup>F-Fluoro-L-Dopa. *J Nucl Med.* 2013;54(7):1154–61.
- Edwards R, Wirth T. 6-fluoro-3,4-dihydroxy- L -phenylalanine - recent modern syntheses for an elusive radiotracer. *J Label Compd Radiopharm.* 2015;58(5):183–7.
120. Edwards, R.; Wirth, T. 6-fluoro-3,4-dihydroxy- L -phenylalanine - recent modern syntheses for an elusive radiotracer. *J Label Compd Radiopharm.* 2015;58(5):183–7.
121. Rodnick, M.E.; Brooks, A.F.; Hockley, B.G.; Henderson, B.D.; Scott, P.J. A fully-automated one-pot synthesis of [<sup>18</sup>F]fluoromethylcholine with reduced dimethylaminoethanol contamination via [<sup>18</sup>F]fluoromethyl tosylate. *Appl Radiat Isot.* 2013 Aug;78:26-32. doi: 10.1016/j.apradiso.2013.04.017. Epub 2013 Apr 24. PMID: 23665261; PMCID: PMC3689581.

## 13. Załączniki

### 13.1. Życiorys zawodowy

#### WYKSZTAŁCENIE

---

<b>10.2017 – 09.2023</b>	Uniwersytet Mikołaja Kopernika - Collegium Medicum w Bydgoszczy Wydział Farmaceutyczny Studia doktoranckie: dziedzina nauki farmaceutyczne
<b>10.2018 – 05.2021</b>	Uniwersytet Medyczny w Łodzi Wydział Farmaceutyczny Specjalizacja: Radiofarmacja mająca zastosowanie w Ochronie Zdrowia
<b>10.2015 - 09.2016</b>	Uniwersytet Adama Mickiewicza w Poznaniu Wydział Chemii Studia podyplomowe: Analityka Chemiczna
<b>10.2010 – 09.2014</b>	Uniwersytet Technologiczno – Przyrodniczy w Bydgoszczy Wydział Inżynierii Mechanicznej Inżynieria Biomedyczna, specjalizacja: techniczny doradca medyczny, studia dzienne I stopnia, inżynierskie
<b>10.2010 – 10.2012</b>	Uniwersytet Mikołaja Kopernika - Collegium Medicum w Bydgoszczy Wydział Lekarski Biotechnologia, specjalizacja: biotechnologia medyczna, studia dzienne II stopnia, magisterskie
<b>10.2007 – 07.2010</b>	Uniwersytet Mikołaja Kopernika - Collegium Medicum w Bydgoszczy Wydział Lekarski Biotechnologia, specjalizacja: biotechnologia medyczna, studia dzienne I stopnia, licencjackie

## DOŚWIADCZENIE ZAWODOWE

---

<b>08.2019 - obecnie</b>	Z-ca Koordynatora ds. Wytwarzania w Laboratorium Produkcji Radiofarmaceutyków, Zakład Medycyny Nuklearnej, Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy
<b>08.2019 - obecnie</b>	Szef Produkcji w Laboratorium Produkcji Radiofarmaceutyków, Zakład Medycyny Nuklearnej, Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy
<b>07.2018 – obecnie</b>	Członek zespołów badawczych prowadzących badania kliniczne Zakład Medycyny Nuklearnej, Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy
<b>08.2020 – 02.2021</b>	Nauczyciel akademicki Wyższa Szkoła Nauk o Zdrowiu w Bydgoszczy
<b>01.2015 – 07.2019</b>	Radiochemik w Laboratorium Produkcji Radiofarmaceutyków, Zakład Medycyny Nuklearnej, Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy

## STAŻE I PRAKTYKI

---

<b>11.2013 – 12.2014</b>	Staż w Laboratorium Produkcji Radiofarmaceutyków, Zakład Medycyny Nuklearnej, Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy
<b>08.2009 – 09.2009</b>	Praktyka w laboratorium diagnostycznym ALAB w 10 Wojskowym Szpitalu Klinicznym w Bydgoszczy
<b>07.2009 – 08.2009</b>	Praktyka w firmie farmaceutycznej FILOFARM w Bydgoszczy

## KURSRY I SZKOLENIA

---

- Akademia Liderów Innowacji
- Clinical Trials
- Good Clinical Practice (GCP)
- Zmiany wymagań oraz oceny ryzyka w świetle nowego podejścia wg ICH Q9 – GMP
- Audyt w wytwórni radiofarmaceutyków i badanych radiofarmaceutyków – GMP
- Walidacja procesu wytwarzania w firmie farmaceutycznej – GMP
- Wykonywanie procedur doświadczalnych na zwierzętach laboratoryjnych
- Metodologia chemiczna (TrainMiC)
- Uprawnienia A–A: Operator akceleratora stosowanego do celów innych niż medyczne

## PUBLIKACJE NAUKOWE

---

Autorzy: **Waśniowski Paweł**, Czuczejko Jolanta, Chuchra M., Wędrowski Mateusz, Marciniak D., Sobiak Stanisław, Małkowski Bogdan.

Tytuł oryginału: Automatic production of [<sup>18</sup>F]F-DOPA using the Raytest SynChrom R&D module.

Czasopismo: Pharmaceuticals

Szczegóły: 2023 : Vol. 16, nr 1, s. 1-12, 10.

IF: 4.6 MEiN: 140

Autorzy: Maruszak Marta, Małkowski Bartłomiej, **Waśniowski Paweł**, Małkowski Bogdan.

Tytuł oryginalny: Unusual course of prostate cancer in PET/MR with [68Ga] Ga-PSMA-11

Czasopismo: International Journal of Clinical Studies & Medical Case Reports

Szczegóły : 2022 , Volume 19, Issues 4

IF: 2.4

Autorzy: **Waśniowski Paweł**, Czuczejko Jolanta, Piekuś-Słomka Natalia, Wędrowska Ewelina, Wędrowski Mateusz, Chuchra M., Sobiak Stanisław, Małkowski Bogdan.

Tytuł oryginału: Effect of hydrolysis time on radiochemical and chemical purity of 2- [<sup>18</sup>F] fluoro-2-deoxy-D-glucose.

Czasopismo: Acta Pol. Pharm.

Szczegóły: 2021 : Vol. 78, nr 4, s. 507-513.

IF: 0.4 MEiN: 140

Autorzy: Wędrowska Ewelina, Pernak Mikołaj, Wędrowski Mateusz, Pankowska Violetta, **Waśniowski Paweł**, Piskorska Elżbieta, Żukow W..

Tytuł oryginału: Impact of anti-inflammatory corticosteroids on changes in selected cytoimmunological parameters in selected interstitial lung diseases.

Czasopismo: J. Educ. Health Sport

Szczegóły: 2019 : Vol. 9, nr 2, s. 334-34

MEiN: 40

Autorzy: Wędrowski Mateusz, **Waśniowski Paweł**, Wędrowska Ewelina, Piskorska Elżbieta, Czuczejko J., Małkowski Bogdan, Żukow W..

Tytuł oryginału: Synthesis and application of (<sup>18</sup>F) fluorodeoxyglucose in oncology diagnosis.

Czasopismo: J. Educ. Health Sport

Szczegóły: 2017 : Vol. 7, nr 12, s. 481-500.

MEiN: 40

Autorzy: Wędrowska Ewelina, Wojciechowska Marzena, Goede Arkadiusz, Wędrowski Mateusz, **Waśniowski P.**, Chmielarski Maciej, Piskorska Elżbieta, Żukow W..

Tytuł oryginału: Preliminary flagellin gene transfection into tumor cells - attempts of generating anti-tumor response in experimental model.

Czasopismo: J. Educ. Health Sport

Szczegóły: 2017 : Vol. 7, nr 12, s. 429-444.

MEiN: 40

Autorzy: Wędrowski Mateusz, **Waśniowski P.**, Wędrowska Ewelina, Golińska Joanna, Piskorska Elżbieta, Żukow W..

Tytuł oryginału: Mobile genetic elements - mechanism and consequences of transposition.

Czasopismo: J. Educ. Health Sport

Szczegóły: 2017 : Vol. 7, nr 12, s. 412-428.

MEiN: 40

Autorzy: **Waśniowski P.**, Czuczejko J., Wróbel M., Kachniarz A., Błaszewski Ł., Małkowski Bogdan.

Tytuł oryginału: Metoda własna syntezy <sup>18</sup>F-L-DOPA przy użyciu modułu syntezy Raytest Synhchrom R&D.

Czasopismo: Nucl. Med. Rev.

Szczegóły: 2016 : Vol. 17, supl. A, s. A40.

IF: 0.9, MEiN: 70

## PREZENTACJA REFERATÓW I KOMUNIKATÓW NAUKOWYCH

---

Autorzy: **Paweł Waśniowski**, Marta Sobiesiak, Jolanta Czuczejko, Justyna Jaworska, Mateusz Wędrowski, Norbert Andrzejewski, Bogdan Małkowski, Stanisław Sobiak

Tytuł: Znaczniki znakowane fluorem <sup>18</sup>F stosowane w diagnostyce neuroblastoma

XVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Medycyny Nuklearnej, 24-28.05.2023 Białystok

Autorzy: Wędrowska Ewelina, Goede Arkadiusz, Chmielarski Maciej, **Waśniowski Paweł**.

Tytuł: Synovial fluid cytological parameters in selected rheumatic diseases. National Scientific Conference "1<sup>st</sup> Summer Scientific On-line School". August 08, 2020.

Autorzy: Chmielarski Maciej, Wędrowska Ewelina, Goede Arkadiusz, **Waśniowski Paweł**.

Tytuł: Evaluation of the transforming growth factor system in BAL material. National Scientific Conference "1<sup>st</sup> Summer Scientific On-line School". August 08, 2020.

Autorzy: **Waśniowski Paweł**, Czuczejko Jolanta, Wędrowska Ewelina, Wędrowski Mateusz.

Tytuł: Wpływ czasu hydrolizy na czystość radiochemiczną i chemiczną [<sup>18</sup>F]fluorodeosyglukozy. BioMedTech Silesia 2019. XVI Konferencja Naukowa, Zabrze, Polska, 2019.04.05-2019.04.05

Autorzy: Wędrowska Ewelina, Chmielarski Maciej\*, Goede Arkadiusz, Golińska Joanna, **Waśniowski Paweł**.

Tytuł: Wpływ leczenia reumatoidalnego zapalenia stawów matotreksatem i prednizonem na podstawie analizy komórek płynu stawowego - : wyniki wstępne. BioMedTech Silesia 2019. XVI Konferencja Naukowa, Zabrze, Polska, 2019.04.05-2019.04.05

Autorzy: Chmielarski Maciej, Wędrowska Ewelina, Golińska Joanna, Goede Arkadiusz, **Waśniowski Paweł**.

Tytuł: Próba oceny mechanizmów apoptozy efektorowych limfocytów T. BioMedTech Silesia 2019. XVI Konferencja Naukowa, Zabrze, Polska, 2019.04.05-2019.04.05

---

Autorzy: **Waśniowski Paweł**, Małkowski Bogdan, Sobiesiak Marta, Czuczejko Jolanta, Wędrowski Mateusz, Bałszewski Ł., Kachniarz A., Chuchra M., Sobiak Stanisław.  
Tytuł: Synteza prekursora do syntezy znacznika <sup>18</sup>F-MFBG wykorzystywanego w diagnostyce nowotworu neuroblastoma : wyniki wstępne.  
III Międzynarodowa Konferencja Radiofarmaceutyczna. Bydgoszcz, 26-27 września 2019

Autorzy: Mateusz Wędrowski, **Paweł Waśniowski**, Jolanta Czuczejko, Bogdan Małkowski  
Tytuł: Wybrane aspekty prawne z zakresu wytwarzania radiofarmaceutyków PET w odniesieniu do GMP  
XVI Kongres Polskiego Towarzystwa Fizyki Medycznej, Gliwice 12 - 15. 06.2019

Autorzy: Artur Kachniarz, Barbara Janota, Jolanta Czuczejko, **Paweł Waśniowski**, Łukasz Bałszewski, Mateusz Wędrowski, , Marek Wróbel, Bogdan Małkowski, Renata Mikołajczak  
Tytuł: Znakowanie peptydu NODAGA-Eksendyna-4 galem-68 [<sup>68</sup>Ga] i badania jakościowe wyznaczonego preparatu w praktyce radiofarmacji Zakładu Medycyny Nuklearnej Centrum Onkologii w Bydgoszczy  
XVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Medycyny Nuklearnej 23-25.05.2018

## **PROJEKTY BADAWCZE**

---

Kierownik projektu:

Nowy sposób syntezy prekursora do syntezy meta-[<sup>18</sup>F]fluorobenzylguanidyny ([<sup>18</sup>F]MFBG) mającej zastosowanie w diagnostyce nowotworu złośliwego - neuroblastoma u dzieci,

Grant służący rozwojowi uczestników studiów doktoranckich: MN-SDF-2/WF/2018

Opiekun naukowy: prof. dr hab. n. farm. Stanisław Sobiak

Wykonawca:

Wieloośrodkowa ocena przydatności klinicznej innowacyjnego badania PET/MR z wykorzystaniem radioznacznika <sup>68</sup>Ga-PSMA-11 w planowaniu terapii personalizowanej u chorych na raka gruczołu krokowego

Grant uzyskany w Agencji Badań Medycznych : 2020/ABM/01/00074

Badacz główny: prof. dr hab. Ewa Sierko

## 13.2. Publikacje



pharmaceuticals



Article

# Automatic Production of [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA Using the Raytest SynChrom R&D Module

Paweł Waśniowski <sup>1,2,\*</sup>, Jolanta Czaczejko <sup>2,3</sup>, Michał Chuchra <sup>2</sup>, Mateusz Wędrowski <sup>2,4</sup>, Dawid Marciniak <sup>5</sup>, Stanisław Sobiak <sup>1</sup> and Bogdan Małkowski <sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, ul. Jagiellonska 13-15, 85-067 Bydgoszcz, Poland

<sup>2</sup> Nuclear Medicine Department, Oncology Centre Professor Franciszek Łukaszczyk Memorial, dr I. Romanowskiej 2 Street, 85-796 Bydgoszcz, Poland

<sup>3</sup> Department of Psychiatry, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, ul. Jagiellonska 13-15, 85-067 Bydgoszcz, Poland

<sup>4</sup> Department of Diagnostic Imaging, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, ul. Jagiellonska 13-15, 85-067 Bydgoszcz, Poland

<sup>5</sup> Department of Manufacturing Techniques, Bydgoszcz University of Science and Technology, ul. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz, Poland

\* Correspondence: wasniowski@co.bydgoszcz.pl; Tel.: +48-52-374-3781

**Abstract:** [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA is widely used in PET diagnostics. Diseases diagnosed with this tracer are schizophrenia, Parkinson's disease, gliomas, neuroendocrine tumors, pheochromocytomas, and pancreatic adenocarcinoma. It should be noted that the [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA tracer has been known for over 30 years. However, the methods of radiosynthesis applied in the past did not allow its clinical use due to low efficiency and purity. Currently, in the market, one encounters different types of radiosynthesis using the fluorine  $^{18}\text{F}$  isotope and variants of the same method. The synthesis and its modifications were carried out using a Raytest SynChrom R&D module. The synthesis consists of the following steps: (a) binding of the fluoride anion  $^{18}\text{F}^-$  on an anion exchange column; (b) elution with  $\text{TBAHCO}_3^-$ ; (c) nucleophilic fluorination to the ABX 1336 precursor; (d) purification of the intermediate product on the C18ec column; (e) Baeyer–Villiger oxidation; (f) hydrolysis; and (g) final purification of the crude product on a semipreparative column. The nucleophilic synthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA was successfully performed in 120 min, using the ABX 1336 precursor on the Raytest SynChrom R&D module, with a radiochemical yield (RCY) of 15%, radiochemical purity (RCP)  $\geq 97\%$ , and enantiomeric purity (ee)  $\geq 96\%$ .

**Keywords:** [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA; Raytest SynChrom R&D; radiosynthesis



**Citation:** Waśniowski, P.; Czaczejko, J.; Chuchra, M.; Wędrowski, M.; Marciniak, D.; Sobiak, S.; Małkowski, B. Automatic Production of [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA Using the Raytest SynChrom R&D Module. *Pharmaceuticals* **2023**, *16*, 10. <https://doi.org/10.3390/ph16010010>

Academic Editor: Junbo Zhang

Received: 26 November 2022

Revised: 12 December 2022

Accepted: 14 December 2022

Published: 22 December 2022



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

### 1. Introduction

The 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine ([ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA) analog, labeled with the fluorine  $^{18}\text{F}$  isotope, is a tracer used in the imaging of the integrity and function of the dopaminergic nigrostriatal system and neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease via Positron Emission Tomography fused with the Computed Tomography (PET/CT) technique [1–3]. This marker has also found applications in oncology, especially in the imaging of neuroendocrine tumors (NETs) [4–6] and neuroblastoma [7,8].

In the first clinical applications of [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA, electrophilic methods began to be used with the carrier-added (CA) [ $^{18}\text{F}$ ]F<sub>2</sub> form, using automated synthesis modules [9–12]. This method, however, presents certain limitations resulting from the restricted access of the centers to the production of [ $^{18}\text{F}$ ]F<sub>2</sub> in the nuclear reaction  $^{20}\text{Ne}(d, \alpha)^{18}\text{F}$ , and the system of transporting this gas to the synthesizer. Other limitations include the low molar activity and low efficiency of [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA synthesis [13].

Due to the clinical increase in the need for [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA, several synthesis methods have been developed using the no-carrier-added (NCA) nucleophilic substitution of



Fluoride ( $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ ) via the  $^{18}\text{O}$  (p, n)  $^{18}\text{F}$  nuclear reaction, which solved the above-mentioned problems and allowed for the widespread application of the tracer [14–17].

The aim of this study was to adapt  $[^{18}\text{F}]\text{F-DOPA}$  radiosynthesis using the Baeyer–Villiger oxidation method with the ABX 1336 precursor to the Raytest SynChrom R&D module.

## 2. Results and Discussion

### 2.1. Recovery of the $^{18}\text{F}$ Isotope from the Ion Exchange Column

The first stage of the synthesis was the recovery of the fluoride isotope from the bed of the quaternary methyl ammonium (QMA) anion exchange column. Earlier work on the nucleophilic synthesis of  $[^{18}\text{F}]\text{F-DOPA}$  reported that both the type and amount of the phase transition catalyst (PTC) have an influence on the formation of by-products, which lowers the yield of the reaction [16,18]. Based on these results, tetrabutylammonium hydrogen carbonate ( $\text{TBAHCO}_3^-$ ) was selected as the PTC for the synthesis and a series of elutions of the fluoride  $^{18}\text{F}$  isotope was performed from the QMA column, using various amounts of  $\text{TBAHCO}_3^-$ . The residues of  $^{18}\text{F}$  fluoride were confirmed on a QMA column 12 h after elution. The actual amount of the  $^{18}\text{F}$  residue was then calculated using the half-life formula.

After elution, azeotropic distillation was carried out at 80 °C with an inert gas stream of 800 mbar. The solvent vapors were collected in a vacuum trap immersed in liquid nitrogen. The distillation was repeated twice in order to completely evaporate the water, reducing the reactivity of fluoride. The volume of acetonitrile added to the second azeotropic distillation was always 50  $\mu\text{L}$  higher than the sum of the volumes of  $\text{TBAHCO}_3^-$  and acetonitrile (MeCN) that remained in the reactor after recovery of the fluoride isotope. The addition of more solvent in the second distillation allows the  $\text{TBAF}[^{18}\text{F}]$  complex, remaining from the first azeotropic distillation, to be removed from the walls of the reactor.

The amount of  $\text{TBAHCO}_3^-$  and MeCN added during elution from the column influences the activity of  $^{18}\text{F}$  fluoride collected in the reaction vessel. It was noted that the residues of the  $^{18}\text{F}$  isotope, with an amount of 100–200  $\mu\text{L}$   $\text{TBAHCO}_3^-$ , are comparable. The addition of  $\text{TBAHCO}_3^-$  in an amount of 50  $\mu\text{L}$  results in an average  $^{18}\text{F}$  fluoride residue of 10,700 MBq. In addition to the amount of  $^{18}\text{F}$  fluoride recovered, the influence of the time of the first and second azeotropic distillations on the decrease in its activity, caused by drying time, was considered. It was found that the greater amount of reagents added, the longer the evaporation time. Considering the above-mentioned factors, the total decrease in activity was calculated, resulting from the sum of the residual  $^{18}\text{F}$  fluoride on the column and the decrease in activity due to the time of azeotropic distillation, compared to the starting activity (120 GBq). The most preferable amount of  $\text{TBAHCO}_3^-$  and MeCN is 100  $\mu\text{L}$ , as a result of the percentage point of activity decrease, which consists of the residual isotope on the ion exchange column and the duration of the azeotropic drying (Table 1).

**Table 1.** Effect of the PTC amount and azeotropic distillation time on the activity of the recovered fluoride isotope  $^{18}\text{F}$ .

Amount of $\text{TBAHCO}_3^-$ ( $\mu\text{L}$ )	Amount of MeCN ( $\mu\text{L}$ )	Activity Remained on the Column 12 H after the End of the Synthesis (MBq)	Calculated Remaining Activity (MBq)	Total Drying Time after Two Azeotropic Distillations (Min)	Percentage Activity Decrease (%)
50 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	1.20 MBq	10,700 MBq	8 min	13.4%
100 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$	0.45 MBq	4000 MBq	12 min	10.4%
150 $\mu\text{L}$	150 $\mu\text{L}$	0.37 MBq	3300 MBq	16 min	12.1%
200 $\mu\text{L}$	200 $\mu\text{L}$	0.25 MBq	2300 MBq	21 min	14.1%

EOB = 120 GBq, 80 °C,  $n = 3$

## 2.2. $^{18}\text{F}$ Isotope Labeling of the Precursor

The next phase was to add the precursor dissolved in dimethylformamide (DMF) to the first reactor. Two commercially available amounts of the ABX precursor 1336 were compared, namely, 10 mg and 30 mg. The results are summarized in Table 2.

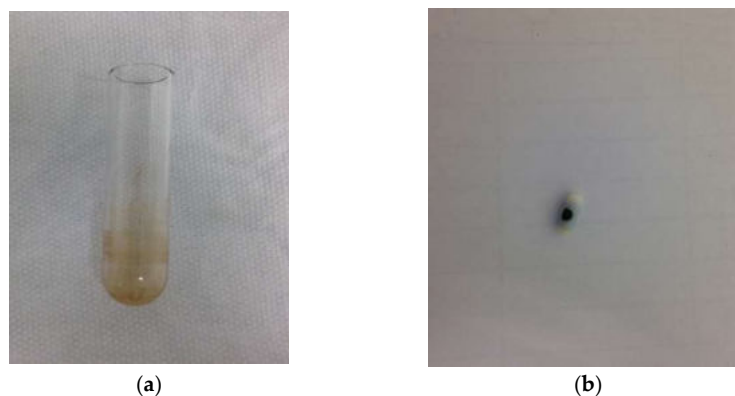
**Table 2.** Effect of the amount of the precursor on the labeling efficiency.

Amount of Precursor (mg)	Amount of Solvent ( $\mu\text{L}$ )	Time (min)	RCY (%)
10 mg	500 $\mu\text{L}$	10 min	70%
30 mg	1000 $\mu\text{L}$	10 min	10%

TBAHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, DMF, 110 °C, *n* = 3

First, radiolabeling was performed with 10 mg of the precursor in 500  $\mu\text{L}$  of DMF by adding it to the dried TBAF[ $^{18}\text{F}$ ] complex. Next, labeling was carried out at 110 °C for 10 min. The radiolabeling efficiency during the first syntheses reached RCY = 40–50%. However, in subsequent syntheses, fluctuations in the labeling efficiency were observed, which decreased to an RCY of 10%. It was noted that the color of the reaction mixture was red at high yields and black at low yields.

The reactor was dismantled to determine the cause of the labeling fluctuations. It turned out that the liquid remaining after the cleaning procedure was accumulating in the vessel to which the dissolved precursor was added, and under the reactor seal. Additionally, the cleaning procedure did not always clean the reactor, the reactor needle, and the magnetic stirrer of compound residues after radiolabeling (Figure 1a,b).



**Figure 1.** Uncleaned (a) reactor and (b) magnetic stirrer after the automatic cleaning procedure.

Initially, the procedure for cleaning and drying the synthesis module was extended, but an alternative and more practical solution was to replace the precursor and MeCN vessel with a disposable plastic syringe (Figures 2 and 3). Furthermore, manual cleaning of the reactor, magnetic stirrer, needle, and reactor rubber was used. Under these conditions, labeling was performed, which was stable, averaging 68% (see Table 3).

After the nucleophilic isotope exchange reaction, it was necessary to remove the polar solvent and unreacted reagents. For this purpose, various amounts and proportions of solvents were added to the reactor, and the reactor mixture was loaded onto the solid phase extraction (SPE) C18ec purification column.

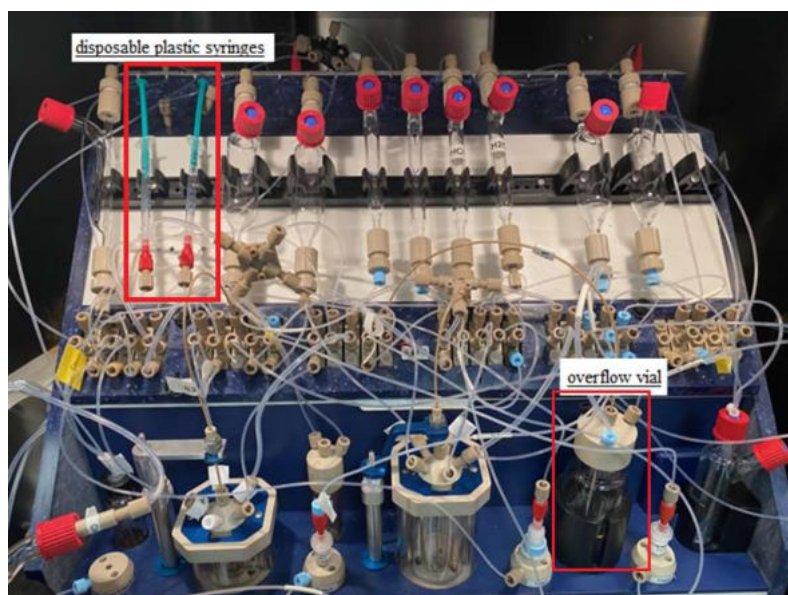


Figure 2. Modifications of the Raytest SynChrom R&D synthesis module.

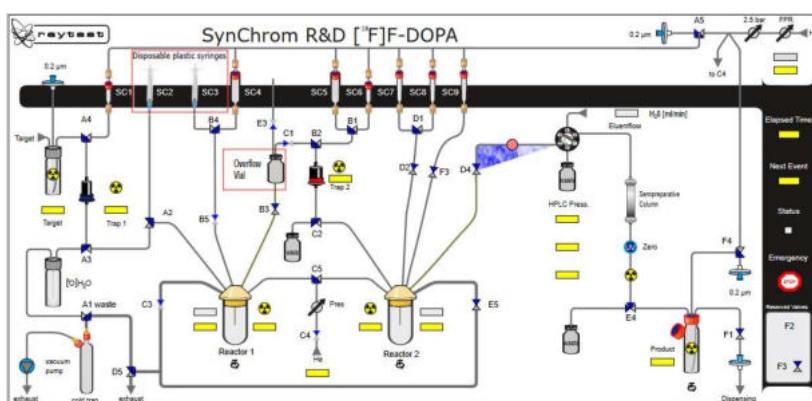


Figure 3. Configuration of the Raytest SynChrom R&D module for  $[^{18}\text{F}]\text{F-DOPA}$  synthesis.

Table 3. Effect of the use of a disposable syringe on labeling efficiency.

	Vial	Syringe
RCY (%)	50%	65%
	20%	70%
	10%	67%
	40%	72%
	15%	65%

TBAHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, DMF, 10 mg precursor, 110 °C, n = 5

During the first purification, 4 mL of water was used. This caused the precipitation of organic compounds, leading to blockage of the transfer capillaries and the purification column itself. The amount of 4 mL was due to the capacity of the first reactor. Modifications were made, and an overflow vial (Figures 2 and 3) with 16 mL of water was added to be able to dilute the reactor mixture in more solvent. However, in this case, the transfer capillaries were also blocked.

In the following purification trials, a 4:1 mixture of the two solvents H<sub>2</sub>O/MeCN was applied: First, 4 mL of the mixture from the first reactor, and then an additional 16 mL from the overflow vial, as above. In this case, the transfer lines were not blocked.

Subsequently, radiolabeling was performed with 30 mg of the precursor in a disposable syringe, using an overflow vial and a 4:1 H<sub>2</sub>O/MeCN solvent mixture. A reduction in the flow rate of the reactor mixture to the column was observed during the post-labeling of the reaction mixture to the purification column. The formation of a precipitate was noted. The precipitate likely consisted of the unreacted precursor, insoluble in the solvent mixture used. This led to a low radiochemical yield of approximately 10% (Table 2).

Assessing the results obtained in previous studies on the synthesis of [<sup>18</sup>F]F-DOPA, it was proved in both the studies by Wagner et al. [16] and Pretze et al. [19] that the use of a smaller amount of precursor has a more favorable effect on the synthesis efficiency.

The use of lower amounts of the precursor exerts a favorable influence on the synthesis efficiency. It provides a better effect on the isolation of the intermediate product, the reduction of by-product formation, the specific activity of the product [16], and the substitution of <sup>18</sup>F, using a combination of K<sub>222</sub> in DMF instead of TBAHCO<sub>3</sub><sup>-</sup> in DMSO [19].

In both of the above-mentioned studies, it was found that the amounts that do not exceed 10 mg of the precursor possess the best influence on the course of the synthesis: Wagner—5, 7 mg (precursor ABX 1335), Pretze—7 mg (precursor ABX 1336). It should be mentioned, however, that after prolonged storage, decomposition of the precursor occurs, which reduces the efficiency of substitution, and in this case, usage in larger amounts allows the efficiency to be maintained at an appropriate level [19].

### 2.3. Oxidation Using mCPBA

Different amounts of m-chloroperoxybenzoic acid (mCPBA) (10 mg, 9 mg, 8 mg, 7 mg, 6 mg, and 5 mg) were taken into account during the tests, and oxidation was carried out at 60 °C for 20 min.

During the experiments with the oxidant, a relationship was observed between the appropriately selected conditions of the oxidation step and the number of individual peaks in the chromatogram, after injecting the crude product into the semipreparative column. In the case of too low an amount of the oxidant used (5 mg, 6 mg), the appearance of the side compound peak was detected, following the specific peak of [<sup>18</sup>F]F-DOPA (Figure 4), whereas in the case of too high an amount of the oxidant (8 mg, 9 mg, 10 mg), the appearance of the side compound peak before the specific peak of [<sup>18</sup>F]F-DOPA was observed (Figure 5). In contrast, when the reaction conditions had been correctly selected (7 mg), no presence of side peaks was found (Figure 6 and Table 4).

The synthesis of [<sup>18</sup>F]F-DOPA remains very sensitive to the amount of oxidant, and to obtain good results, its concentration must be precisely adjusted to achieve the desired reaction conditions. The oxidative power of mCPBA decreases with time, which means that the mCPBA amount used in the synthesis must be constantly adjusted. The selection of appropriate oxidation conditions is also of great importance. An appearance and high of the side-compound peaks in the semipreparative column chromatogram may indicate the oxidation condition changes. It provides the operator with the opportunity for a proper reaction.

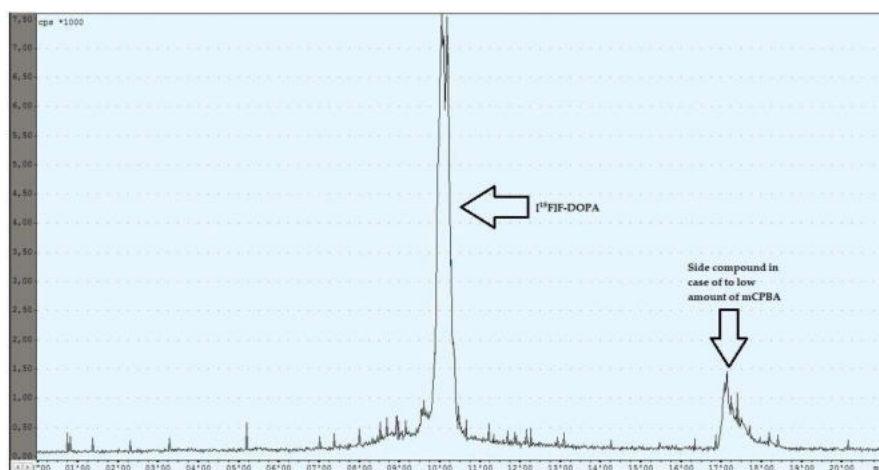


Figure 4. Reaction with too low an amount of mCPBA.

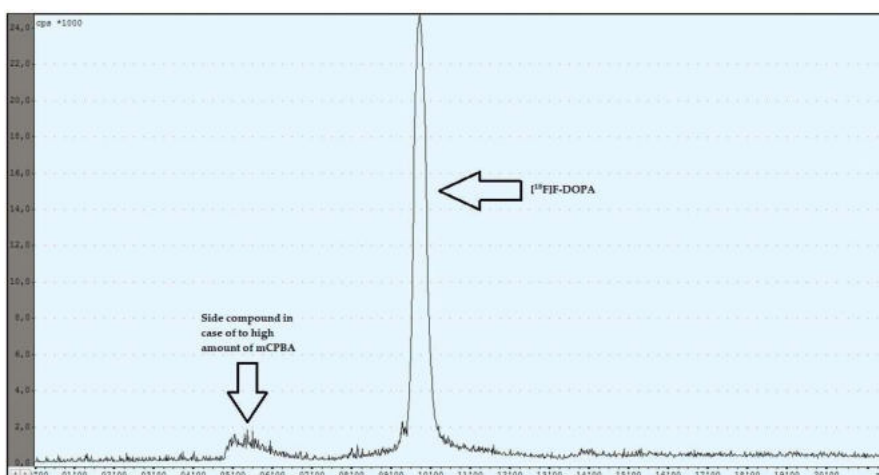


Figure 5. Reaction with too high an amount of mCPBA.

Table 4. Comparison of oxidation conditions using mCPBA.

Method	Time (min)	Temperature (°C)	Amount of mCPBA (mg)	Solvent	Amount of Precursor (mg)
Sauvage [20]	20 min	60 °C	-	MeCN	-
Martin [21]	16 min	55 °C	-	MeCN	-
Pretze [19]	20 min	65 °C	5 mg	CH <sub>3</sub> Cl	7 mg
Huang [22]	9.5/5.5 min	65/55 °C	20 mg	MeCN	30 mg
This work	20 min	60 °C	7 mg	MeCN	10 mg

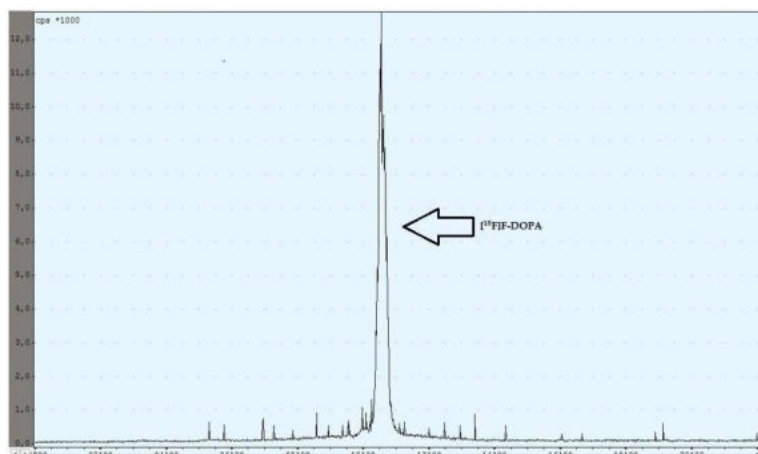


Figure 6. Reaction with the correct amount of mCPBA.

#### 2.4. Hydrolysis

The next stage in the radiosynthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA was hydrolysis to deprotect groups. In this case, the absence of the imidazolidinone group allows the use of milder hydrolysis conditions compared to the synthesis using the ABX 1335 precursor [15]. As can be seen in Table 5, all compared methods of [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA synthesis are based on the use of milder hydrolysis conditions. Additionally, ethanol (EtOH) was added in an amount of 3%, relative to the amount of 30% hydrochloric acid (HCl).

Table 5. Comparison of hydrolysis conditions with 30% HCl.

Method	Time (min)	Temperature (°C)
Sauvage [20]	-	40 °C
Martin [21]	20 min	50 °C
Pretze [19]	20 min	65 °C
Huang [22]	20 min	50 °C
This work	20 min	60 °C

#### 2.5. [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA Crude Product Purification

Purification of the crude final product was carried out using the HPLC method by loading the mixture onto a Hamilton PRP 10  $\mu\text{m}$  250  $\times$  10 mm semipreparative column. The mobile phase was water and the flow rate was 4 mL/min. The collection of the purified product from the semipreparative column took place by reversing the flow direction of the eluate exiting the column into the product reactor. The proper peak appeared after approximately 10 min (Figure 5). The yield of the total RCY synthesis was 8–10%.

As an alternative, a method using SPE columns was tested. In this case, the reaction mixture was purified using combined C18/HRP columns. The total yield increased to 13–15%. The method of purification using SPE columns was first proposed by Martin et al. [23]. Later, Pretze introduced modifications to this method, using a base to neutralize the acid after hydrolysis. In this work, the Pretze method was used as an alternative for semipreparative purification [19].

By applying the SPE column method, it was possible to eliminate operator error associated with starting the collection of the specific peak too late, which could have reduced the efficiency of the synthesis, or too early, which could have affected the final purity of the product.

### 3. Materials and Methods

#### 3.1. General

Chemicals used for the synthesis and quality control of [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA were purchased from Sigma Aldrich. The precursor for the synthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA (ABX 1336),  $\text{TBAHCO}_3^-$ , and quality control standards was obtained from ABX Advanced Biochemical Compounds GmbH. SPE columns were purchased from Waters and Macherey-Nagel. All radio syntheses and their modifications were performed using the Raytest SynChrom R&D synthesis module.

#### 3.2. Cyclotron Production of the Fluoride Isotope $^{18}\text{F}$

The SIEMENS Eclipse 11 MeV Cyclotron was used to produce the  $^{18}\text{F}$  isotope. The target material to produce  $^{18}\text{F}$  fluoride was water-enriched in the oxygen isotope [ $^{18}\text{O}$ ]  $\text{H}_2\text{O}$  (2.4 mL) from Cambridge Isotope Laboratories (CIL water  $^{18}\text{O}$ , 97%). At the end of the bombardment (EOB,  $t = 0$ ), the amount of the  $^{18}\text{F}$  fluoride isotope averaged 120 GBq. The  $^{18}\text{F}$  anion was transported in a 2.4 mL aqueous solution from the cyclotron target to the Raytest SynChrom R&D synthesis module through a Teflon capillary using argon as a pushing gas.

#### 3.3. Automatic Radiosynthesis Using the Raytest Synchrom R&D Module

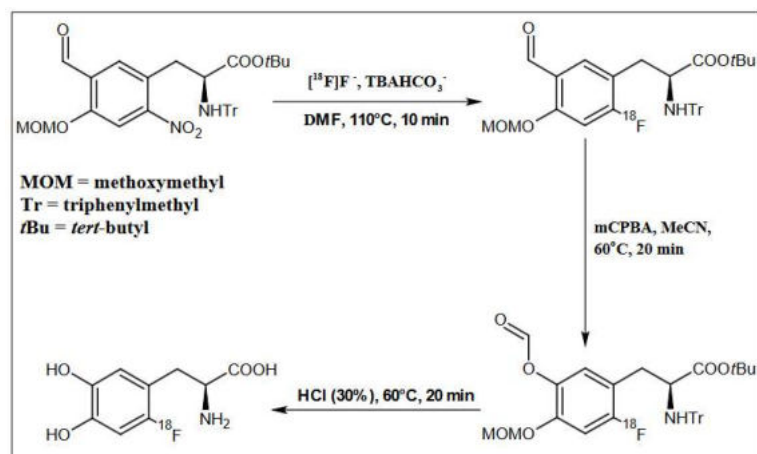
The  $^{18}\text{F}$  anion, free of impurities reducing its activity, was separated on the Preconditioned Sep-PAK Light QMA Cartridge with  $\text{CO}_3^{2-}$  as the counter ions. The fluoride anion was recovered from the QMA column by elution with a 0.075M  $\text{TBAHCO}_3^-$  solution in MeCN, followed by double azeotropic distillation to remove residual water.

The precursor for the nucleophilic synthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA (ABX 1336), (S)-3-(5-Formyl-4-methoxymethoxy-2-nitro-phenyl)-2-(trityl-amino)-propionic acid tert-butyl ester in DMF was added to the reaction vessel. The labeling temperature was maintained at 110 °C and the process lasted 10 min.

After the labeling was complete, the water-acetonitrile ( $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$ ) mixture was added to the reactor, and then the solution was loaded onto a Chromabond C18ec (octadecyl-modified silica, end-capped) purification column. DMF, the free isotope of fluoride [ $^{18}\text{F}$ ], 0.075 M  $\text{TBAHCO}_3^-$  and other contaminants formed during labeling were discharged into the waste. The intermediate was retained on the column, rinsed with 15 mL of  $\text{H}_2\text{O}$ , and then eluted into a second reactor with 2 mL of MeCN.

In the next step, oxidation of the intermediate compound using mCBPA was carried out at 60 °C for 16 min. In order to remove the protecting groups from the intermediate compound, 1 mL of 30% HCl containing 3% EtOH was used. Hydrolysis was carried out for 20 min at a temperature of 60 °C. Then the crude [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA was diluted with 5 mL of  $\text{H}_2\text{O}$ . The last stage was the introduction of the solution on a semipreparative column, Hamilton PRP 10  $\mu\text{m}$  250  $\times$  10 mm, and in order to purify and collect the final product [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA, the eluent was  $\text{H}_2\text{O}$  with a flow of 4 mL/min (Figure 3, Figure 7 and Table 6).





**Figure 7.** Schematic depiction of reaction conditions for [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA synthesis using the ABX 1336 precursor.

**Table 6.** Details of module preparation for automated [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA synthesis.

Vial/Component	Reagent	Volume
SC1	0.075M TBAHCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> in MeCN	100 $\mu\text{L}$ + 100 $\mu\text{L}$
SC2 syringe	MeCN	250 $\mu\text{L}$
SC3 syringe	Precursor (ABX 1336) in DMF	10 mg + 500 $\mu\text{L}$
SC4	MeCN/H <sub>2</sub> O	4 mL (4:1)
OVERFLOW VIAL	MeCN/H <sub>2</sub> O	16 mL (4:1)
SC5	H <sub>2</sub> O	15 mL
SC6	MeCN	2 mL
SC7	mCPBA in MeCN	7 mg + 2 mL
SC8	HCl (30%) + containing 3% EtOH	1 mL + 30 $\mu\text{L}$
SC9	H <sub>2</sub> O	5 mL
Trap 1	Conditioned QMA	one
Trap 2	Conditioned C18ec	one
Semipreparative HPLC	Hamilton PRP 10 $\mu\text{m}$ 250 $\times$ 10 mm H <sub>2</sub> O, flow 4 mL/min	-

### 3.4. Quality Control

General quality control of [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA was performed according to Polish Pharmacopoeia 12th edition (based on the European Pharmacopoeia), the monograph Fluorodopae (18F) ab nucleophila substitutione solutio iniectionabilis 04/2019: 2481, and European Pharmacopoeia 10th edition, the monograph Fluorodopae (18F) ab nucleophila substitutione solutio iniectionabilis 04/2019: 2481. The estimation of residual solvents was performed according to Polish Pharmacopoeia 12th edition (based on the European Pharmacopoeia), chapter 5.4, and European Pharmacopoeia 10th edition chapter 5.4: Residual solvents.

According to specification and three Quality Control (QC) results (Table 7), QC of the produced [ $^{18}\text{F}$ ]F-DOPA included the appearance, potentiometric analysis of pH (4.0–5.5), examination of radionuclide identity (497–526 keV), approximate half-life (105–115 min), radiochemical purity ( $\geq 95\%$  of total fluoride-18 radioactivity), enantiomeric purity



(L-form  $\geq 96\%$  total fluoride-18 radioactivity), chemical purity (0.5 mg/V), residual solvent content (acetonitrile  $\leq 0.82$  mg/mL, ethanol  $\leq 10$  mg/mL, methanol  $\leq 6$  mg/mL, TBA residual ( $<0.26$  mg/mL), analysis of bacterial endotoxin concentration (kinetic chromogenic method;  $<35$  IU/mL), filter integrity test, and assessment of sterility.

**Table 7.** Specification and three QC results of [ $^{18}\text{F}$ ]-DOPA using the Raytest SynChrom R&D module.

QC Test	Specification (Acceptance Criteria)	QC Result		
		QC 1	QC 2	QC 3
Appearance	Clear, colorless solution	Comply	Comply	Comply
pH	4.0–5.5	4.8	5.1	5.0
Radionuclidic identification	Gamma photons have an energy of 497–526 keV	514 keV	516 keV	512 keV
Half life	105–115 min	109.5	109	110
Radiochemical purity (HPLC) 6- $^{18}\text{F}$ -DOPA	$\geq 95\%$ the total radioactivity	99.6%	97.6%	99.4%
Radiochemical purity (TLC) 6- $^{18}\text{F}$ -DOPA	$\geq 95\%$ the total radioactivity	97.9%	96.2%	95.67%
Enantiomeric purity L-form of 6- $^{18}\text{F}$ -DOPA	$\geq 96\%$ the total radioactivity	97.4%	98.9%	98.1%
Chemical purity (HPLC) All chemical impurities Including total peak of 6-fluoro-L-DOPA	2.5 mg/5 mL (0.5 mg/mL)	0.0107 mg/mL	0.018 mg/mL	0.4408 mg/mL
Residual TBA	$<1.3$ mg/5 mL ( $<0.26$ mg/mL)	$<0.26$ mg/mL	$<0.26$ mg/mL	$<0.26$ mg/mL
Residual solvents:				
Ethanol (GC)	$\leq 50$ mg/5 mL ( $\leq 10$ mg/mL)	1.063 mg/mL	0.004 mg/mL	0.2706 mg/mL
Acetonitrile (GC)	$\leq 4.1$ mg/5 mL ( $\leq 0.82$ mg/mL)	0.7854 mg/mL	0.0023 mg/mL	0.0029 mg/mL
Methanol (GC)	$\leq 30$ mg/5 mL ( $\leq 6$ mg/mL)	0.8294 mg/mL	0.0028 mg/mL	0.0008 mg/mL
Bacterial endotoxins	$<175$ EU/5 mL ( $<35$ EU/mL)	$<0.250$ EU/mL	$<0.250$ EU/mL	$<0.250$ EU/mL
Filter integrity test	$\geq 3$ Bar	4.0 Bar	4.2 Bar	4.0 Bar
Sterility *	Sterile	Comply	Comply	Comply

\* The preparation may be released for use before completion of the test.

The identity and radionuclide purity were tested using the multi-channel analyzer (MUCHA) by Elysia-Raytest.

The radiochemical and chemical purity was verified with a high-performance liquid chromatograph Agilent HPLC 1200 connected in series with a Diode Array Detector (DAD), by means of a Synergi 4P Hydro-RP analytical column,  $250 \times 4.5$  mm; Phenomenex, a flow of 1 mL/min, gradient elution, mobile phase: Aqueous acetic acid (0.1%): methanol 97:3 (v/v). To test the enantiomeric identity, an Agilent HPLC 1200 connected in series with a DAD detector (wavelength of 283 nm) was used, using a CHIRAL Daicel CROWNPAK CR (+)  $5\mu$  column,  $4.0 \times 150$  mm, at a temperature of  $15^\circ\text{C}$  with isocratic elution, a flow of 0.2 mL/min, and a mobile phase of a 0.02 M aqueous solution of chloric acid (VII).

The TBA residual was examined with an Agilent HPLC 1100 connected in series with the Ultraviolet UV detector (wavelength of 254 nm), using a NUCLEODUR<sup>fi</sup> C18 Isis analytical column  $100 \times 4.6$  mm  $3\mu\text{m}$ , Macherey–Nagel, with a flow of 0.6 mL/min and a mobile phase of toluenesulfonic acid (0.95 g/L): acetonitrile 25:75 (v/v)

The radiochemical purity was also tested by TLC on silica gel plates (aluminum Silica Gel 60 F254 Merck), with a mobile phase of 0.4 M sulfuric (VI) acid: 0.005 M DTPA (1 mL:10  $\mu$ L DTPA).

A GC gas chromatograph by Agilent with the application of a flame ionization detector (FID) and a Zebron ZB-WAXplus 30m  $\times$  0.53 mm  $\times$  1.00  $\mu$ m column was used to test the content of residual solvents. The carrier gas was helium 6.0.

#### 4. Conclusions

In conclusion, the nucleophilic method of [ $^{18}$ F]F-DOPA synthesis was successfully performed using the ABX 1336 precursor and the Raytest SynChrom R&D module. The synthesis was performed for 120 min and the radiochemical yield was 15%, radiochemical purity was  $\geq 97\%$ , and enantiomeric purity was  $\geq 96\%$ .

The application of a smaller amount of the ABX 1336 precursor and the appropriate selection of the mCPBA oxidant in the Baeyer–Villiger oxidation had a better effect on the synthesis radiochemical yield.

The use of SPE purification of the crude product, as compared to purification on a semipreparative column, allowed the elimination of operator error resulting from collecting the specific peak too late, which could reduce the efficiency of the synthesis, or too early, which could affect the final purity of the product. However, the use of SPE purification does not provide the opportunity to observe the changing oxidation conditions and have the appropriate reaction.

It seems that, in order to avoid the above-described problems with the accumulation of impurities after synthesis, a better solution would be to use a module with replaceable disposable radiosynthesis cassettes or a cleaning system immediately after synthesis.

**Author Contributions:** Conceptualization, P.W.; methodology, P.W. and J.C.; software: P.W. and D.M.; validation: P.W., D.M., M.C. and J.C.; formal analysis: P.W. and S.S.; investigation: P.W. and J.C.; resources: P.W., B.M. and S.S.; data curation: P.W., J.C. and M.C.; writing—original draft preparation: P.W., J.C., M.W. and M.C.; writing—review and editing: P.W., J.C., M.W. and M.C.; visualization: P.W. and M.W.; supervision, P.W., S.S. and B.M.; project administration: P.W. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by Nicolaus Copernicus University in Torun of the IDUB UMK program.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** Data is contained within the article.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

#### References

1. Garnett, E.S.; Firnau, G.; Nahmias, C. Dopamine visualized in the basal ganglia of living man. *Nature* **1983**, *305*, 137–138. [[CrossRef](#)]
2. Fischman, A.J. Role of [ $^{18}$ F]-dopa-PET imaging in assessing movement disorders. *Radiol. Clin. N. Am.* **2005**, *43*, 93–106. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Darcourt, J.; Schiazza, A.; Sapin, N.; Dufour, M.; Ouvrier, M.J.; Benisvy, D.; Fontana, X.; Koulibaly, P.M. 18F-FDOPA PET for the diagnosis of parkinsonian syndromes. *Q. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2014**, *58*, 355–365. [[PubMed](#)]
4. Groves, A.M.; Win, T.; Haim, S.B.; Ell, P.J. Non- $^{18}$ F]FDG PET in clinical oncology. *Lancet Oncol.* **2007**, *8*, 822–830. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Seibyl, J.P.; Chen, W.; Silverman, D.H. 3,4-Dihydroxy-6- $^{18}$ F]fluoro-L-phenylalanine positron emission tomography in patients with central motor disorders and in evaluation of brain and other tumors. *Semin. Nucl. Med.* **2007**, *37*, 440–450. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Jager, P.L.; Chirakal, R.; Marriott, C.J.; Brouwers, A.H.; Koopmans, K.P.; Gulenchyn, K.Y. 6-L- $^{18}$ F-fluorodihydroxyphenylalanine PET in neuroendocrine tumors: Basic aspects and emerging clinical applications. *J. Nucl. Med.* **2008**, *49*, 573–586. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

7. O'Brien, S.R.; States, L.J.; Zhuang, H. Neuroblastoma Shown on  $^{18}\text{F}$ -DOPA PET/CT Performed to Evaluate Congenital Hyperinsulinism. *Clin. Nucl. Med.* **2021**, *46*, 927–928. [[CrossRef](#)]
8. Piccardo, A.; Lopci, E. Potential role of  $^{18}\text{F}$ -DOPA PET in neuroblastoma. *Clin. Transl. Imaging* **2016**, *4*, 79–86. [[CrossRef](#)]
9. Fluorodopa (18F) (prepared by electrophilic substitution) injection. *Eur. Pharmacopoeia* **2008**, *6*, 990–992.
10. Namavari, M.; Bishop, A.; Satyamurthy, N.; Vida, G.; Barrio, J.R. Regioselective radiofluorodestannylation with  $^{18}\text{F}$  $\text{F}_2$  and  $^{18}\text{F}$ CH<sub>3</sub>COOF: A high yield synthesis of  $^{18}\text{F}$ fluoro-L-dopa. *Appl. Radiat. Isot.* **1992**, *43*, 989–996. [[CrossRef](#)]
11. Luxen, A.; Guillaume, M.; Melega, W.P.; Pike, V.W.; Solin, O.; Wagner, R. Production of 6- $^{18}\text{F}$ fluoro-L-dopa and its metabolism in vivo—A critical review. *Int. J. Radiat. Appl. Instrum. Part B Nucl. Med. Biol.* **1992**, *19*, 149–158. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Tredwell, M.; Gouverneur, V.  $^{18}\text{F}$  Labeling of Arenes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11426–11437. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Hess, E.; Blessing, G.; Coenen, H.H.; Qaim, S. Improved target system for production of high purity  $^{18}\text{F}$  fluorine via the  $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$  reaction. *Appl. Radiat. Isot.* **2000**, *52*, 1431–1440. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Kuik, W.J.; Kema, I.P.; Brouwers, A.H.; Zijlma, R.; Neumann, K.D.; Dierckx, R.A.J.O.; DiMagno, S.G.; Elsinga, P.H. In Vivo Biodistribution of No-Carrier-Added 6- $^{18}\text{F}$ -Fluoro-3,4-Dihydroxy-L-Phenylalanine ( $^{18}\text{F}$ -DOPA), Produced by a New Nucleophilic Substitution Approach, Compared with Carrier-Added  $^{18}\text{F}$ -DOPA, Prepared by Conventional Electrophilic Substitution. *J. Nucl. Med.* **2014**, *56*, 106–112. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Libert, L.C.; Franci, X.; Plenevaux, A.R.; Ooi, T.; Maruoka, K.; Luxen, A.J.; Lemaire, C.F. Production at the Curie Level of No-Carrier-Added 6- $^{18}\text{F}$ -Fluoro-L-Dopa. *J. Nucl. Med.* **2013**, *54*, 1154–1161. [[CrossRef](#)]
16. Wagner, F.M.; Ermert, J.; Coenen, H.H. Three-Step, “One-Pot” Radiosynthesis of 6-Fluoro-3,4-Dihydroxy-L-Phenylalanine by Isotopic Exchange. *J. Nucl. Med.* **2009**, *50*, 1724–1729. [[CrossRef](#)]
17. Pretze, M.; Wängler, C.; Wängler, B. 6- $^{18}\text{F}$ Fluoro-L-DOPA: A Well-Established Neurotracer with Expanding Application Spectrum and Strongly Improved Radiosyntheses. *BioMed Res. Int.* **2014**, *2014*, 674063. [[CrossRef](#)]
18. Mele'an, J.C.; Ermert, J.; Coenen, H.H. Enantiospecific synthesis of 2- $^{18}\text{F}$ fluoro-L-phenylalanine and 2- $^{18}\text{F}$ fluoro-L-tyrosine by isotopic exchange. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 765–769. [[CrossRef](#)]
19. Pretze, M.; Franck, D.; Kunkel, F.; Foßhag, E.; Wängler, C.; Wängler, B. Evaluation of two nucleophilic syntheses routes for the automated synthesis of 6- $^{18}\text{F}$ fluoro-L-DOPA. *Nucl. Med. Biol.* **2017**, *45*, 35–42. [[CrossRef](#)]
20. Sauvage, C.; Lazarova, N.; Mueller, M. 18F-L-FDOPA Automated Production via the Nucleophilic Route. *J. Nucl. Med.* **2015**, *56* (Suppl. 3), 1011.
21. Martin, R.; Baumgart, D.; Huebner, S.; Juettler, S.; Saul, S.; Clausnitzer, A.; Mollitor, J.; Smits, R.; Hoeppling, A.; Mueller, M. Automated nucleophilic one-pot synthesis of F-18-L-DOPA with high specific activity using the GE TRACERlab MXFDG. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2013**, *56*, S126.
22. Huang, Y.Y.; Poniger, S.; Tsai, C.L.; Tochon-Danguy, H.J.; Ackermann, U.; Yen, R.F. Three-step two-pot automated production of NCA  $^{18}\text{F}$ FDOPA with FlexLab module. *Appl. Radiat. Isot.* **2020**, *158*, 108871. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Martin, R.; Baumgart, D.; Huebner, S.; Juettler, S.; Saul, S.; Clausnitzer, A.; Mollitor, J.; Smits, R.; Hoeppling, A.; Mueller, M. First SPE method for routine production of nucleophilic L- $^{18}\text{F}$ FDOPA. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2013**, *56*, S126.

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## DRUG SYNTHESIS

### EFFECT OF HYDROLYSIS TIME ON RADIOCHEMICAL AND CHEMICAL PURITY OF 2- [<sup>18</sup>F] FLUORO-2-DEOXY-D-GLUCOSE

PAWEŁ WAŚNIEWSKI<sup>1,2\*</sup>, JOLANTA CZUCZEJKO<sup>2,3</sup>, NATALIA PIEKUŚ-SŁOMKA<sup>1</sup>,  
EWELINA WĘDROWSKA<sup>4</sup>, MATEUSZ WĘDROWSKI<sup>2,5</sup>, MICHAŁ CHUCHRA<sup>2</sup>,  
STANISŁAW SOBIAK<sup>1</sup>, and BOGDAN MAŁKOWSKI<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, ul. Jagiellonska 13-15, 85-067 Bydgoszcz, Poland

<sup>2</sup>Nuclear Medicine Department, Oncology Centre prof. Franciszek Łukaszczyk Memorial, ul. dr I. Romanowskiej 2, 85-796 Bydgoszcz, Poland

<sup>3</sup>Department of Psychiatry, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, ul. Jagiellonska 13-15, 85-067 Bydgoszcz, Poland

<sup>4</sup>Department of Lung Diseases, Neoplasms and Tuberculosis, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, ul. Jagiellonska 13-15, 85-067 Bydgoszcz, Poland

<sup>5</sup>Department of Diagnostic Imaging, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, ul. Jagiellonska 13-15, 85-067 Bydgoszcz, Poland

**Abstract:** The basis for the release of [<sup>18</sup>F]FDG for use is the results of quality control studies within the scope of the specification, based on the recommendations of the Pharmacopoeia (FP XI and Ph. Eur. IX). The object of this study is the influence of the [<sup>18</sup>F]FDG hydrolysis time on the quality parameters, with particular regard to radiochemical purity. The synthesis was performed at three different hydrolysis times: 8, 10, and 12 minutes. 21 syntheses were performed for each time. For the [<sup>18</sup>F]FDG solution, the radiochemical purity was assessed with the TLC method, the radiochemical and chemical purity with the HPLC method, and the pH value with the potentiometric method. Extending the hydrolysis time significantly increased the radiochemical purity of the final [<sup>18</sup>F]FDG product, improving its quality parameters (mainly reducing the amount of acetyl derivatives of [<sup>18</sup>F]FDG while maintaining chemical purity and pH value but with a slight loss of activity. A result at the accept/reject limit may negatively affect the stability test. Increasing the radiochemical purity allows us to avoid the invalidation of this test due to the influence of device measurement error and possible operator error (human). Minimizing contamination reduces impact GLUT independent tumor cell accumulation of [<sup>18</sup>F]FDG, which its detail of character is still unknown. The possibility of a false-positive result in an imaging examination and minimizes the impact of radiation from contaminants on the patient's tissues. Additional biological studies should be performed to investigate the metabolism of the acetyl derivative of [<sup>18</sup>F]FDG.

**Keywords:** [<sup>18</sup>F]FDG synthesis, hydrolysis time, PET

Positron emission tomography (PET) is an emission method. Unlike absorption methods, in the PET method, the image is generated on the basis of information sent from the object, which requires the source of this information to be placed in the object under study. The information carrier in PET is gamma radiation quanta, while the radiation source is a radiopharmaceutical accumulated in the body (1-3).

Cancer cells create their microenvironment, in which a different cellular metabolism functions. They prefer anaerobic glycolysis even with sufficient

oxygen. Anaerobic glycolysis, although it provides a small amount of ATP, is a source of intermediate products needed, among other things, for the synthesis of nucleic acids, proteins, and lipids. Cancer cells compensate for the choice of a less efficient process by a 124-fold increase in the intensity of anaerobic glycolysis. Increasing the intensity of this process increases the formation of intermediate products, maintaining the supply of energy and nutrients at an appropriate level (4-6).

Increased glucose metabolism and the associated different pathway of [<sup>18</sup>F]FDG metabolism and

\* Corresponding author: e-mail: wasniowski@co.bydgoszcz.pl

accumulation in neoplastic cells is used in the process of diagnosing malignant growth foci with positron emission tomography (7).

Glucose labeled with the fluorine  $^{18}\text{F}$  isotope is one of the most frequently used radiopharmaceuticals in oncological diagnostics using PET technology.

$2\text{-}[^{18}\text{F}]\text{fluoro-2-deoxy-D-glucose}$  is an effective imaging agent for various types of tumors characterized by increased glucose metabolism. The development of effective methods of synthesis performed with the use of automated radiochemical modules, the relatively long half-life of the  $^{18}\text{F}$  fluorine isotope, and the effectiveness of cancer imaging contributed to the widespread use and commercialization of this radiotracer (8-10).

The individual steps of the synthesis and purification of  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  are aimed at producing a radiopharmaceutical of the highest purity, meeting all the quality requirements resulting from the recommendations of the Polish Pharmacopoeia (FP XI) and/or the European Pharmacopoeia (Ph. Eur. IX). The method of synthesis and purification, with a properly programmed automatic procedure, which is important for the amount of reagents added, temperature, and duration of individual stages, has an influence on the amount of radiochemical and chemical contamination and the correct pH value of the produced radiopharmaceutical.

## EXPERIMENTAL

### Materials and methods

#### *Automatic radiosynthesis on the Explora FDG4 module*

The SIEMENS Eclipse 11 MeV Cyclotron was used to produce the  $^{18}\text{F}$  isotope. The target material for the production was 2.4 mL of water enriched in the isotope of oxygen  $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ . The reaction that occurred during the conversion of fluorine to  $^{18}\text{F}^-$  was  $^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$ . At the end of the bombardment (EOB,  $t = 0$ ) the amount of the  $^{18}\text{F}$  fluorine isotope averaged 120 GBq. The produced  $^{18}\text{F}^-$  ion in 2.4 mL of an aqueous solution was transported from the cyclotron target to the Explora FDG<sub>4</sub> synthesis module by a Teflon capillary using argon as a push gas.

In order to separate the  $^{18}\text{F}^-$  ion from impurities reducing its activity (water, metal ions from the cyclotron target), the aqueous solution of fluoride was passed through the ion exchange column Preconditioned Sep-PAK Light QMA Cartridge with  $\text{CO}_3^{2-}$  - as counterions, filled with an organic polymer connected to hydrocarbon chains containing at their terminus groups  $-\text{NR}^{3+}$  derived from quaternary ammonium salts. The  $\text{CO}_3^{2-}$  carbonate anions are

counterions that balance the positive charge of the end of the hydrocarbon chain.

There was an anion exchange on the column. Fluorine was retained on the column beds, and the water with metal ions and  $\text{CO}_3^{2-}$  was removed to the reclaimed water vessel.

The fluoride anion from the QMA cartridge was recovered by elution with an aqueous-acetonitrile solution of Kryptofix (Kryptand 222) and  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.9 mL).

During elution, residual water gets into the reaction vessel and needs to be removed. The acetonitrile (2.2 mL) added to the reaction vessel forms an azeotropic mixture with water. The reaction mixture is evaporated at  $110^\circ\text{C}$  until the solvents ( $\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{CH}_3\text{CN}$ ) are completely eliminated in a stream of inert gas - nitrogen of purity 5.0. With a completely dry reaction vessel, the temperature reading (from the software of the Explora FDG<sub>4</sub> module) rises above  $110^\circ\text{C}$ . At this point, the evaporation process of the contents of the reaction vessel is complete. The process is repeated twice and lasts from 5 to 10 minutes.

The precursor used in the production of  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  was mannose triflate (1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-trifluoromethanesulfonyl- $\beta$ -D-mannopyranose). The precursor used has a leaving group in position 2 - triflate (triflate), and in position 1,3,4,6 protecting groups - acetyl. During the nucleophilic substitution reaction, the triflate group is replaced with the fluorine isotope  $^{18}\text{F}$  and the spatial arrangement of the sugar C2 carbon atom substituents is inverted, according to the  $\text{S}_{\text{N}}2$  nucleophilic bimolecular substitution mechanism. The labeling temperature was  $90^\circ\text{C}$ , and the process took 1 minute. The amount of mannose triflate used for the reaction is  $50 \text{ mg} \pm 5\%$  per run in a volume of 2.2 mL of acetonitrile. After the labeling is complete, the acetonitrile is evaporated off. The evaporation time was on average 5 minutes. This process takes place for greater efficiency under a stream of nitrogen with a purity of 5.0-6.0.

The final step in the synthesis was the removal of the acetyl protecting groups. The acid hydrolysis of tetra-acetyl  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  is carried out with 2.5 mL of 1 N hydrochloric acid added to a reaction vessel that has been heated to  $120^\circ\text{C}$ . The reaction was performed at three different times of 8, 10, and 12 minutes. 21 syntheses were performed for each time. Under these conditions, the acetyl groups are detached and converted to acetic acid. At the point of decoupling, hydrogen is attached to form OH groups.

Purification of the crude end product was accomplished by transferring the reaction mixture through a series of columns. The cation exchange column removed  $\text{K}^+/\text{K}222$  complexes, the ion retarding

cartridge neutralized the acid, the neutral alumina column removed the unreacted  $^{18}\text{F}$  anions, the C18 cartridge removed the tetra-acetyl [ $^{18}\text{F}$ ]FDG.

#### Quality control - method validation

##### *The validation of a method for determination of radiochemical purity of $^{18}\text{F}$ FDG – the TLC method*

The TLC method for determining the radiochemical purity was validated according to ICH (The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) standards.

The validation of the specificity and reproducibility parameters was carried out on three series of  $^{18}\text{F}$ -FDG. The method was consistent with the pharmacopoeial monograph: FP XI FDG: 07/2008: 1325.

The equipment used to perform the determination of radiochemical purity of [ $^{18}\text{F}$ ]FDG was a radio TLC scanner (miniGITA TLC; Elysia-Raytest, Germany). TLC plates were aluminum plates ( $10 \times 2$  cm) pre-coated with Silica 60 F254 from Merck. TLC mobile phase was a freshly made mixture of acetonitrile and water (95 : 5 v/v). Samples (the size of the spot was 5  $\mu\text{L}$ ) were applied 1 cm above the bottom of the plate. The plates were developed in a glass chamber ( $10 \times 20$  cm). The vapor space of the chamber was saturated for 30 min before TLC plates were developed. The migration distance was 8 cm. After the development, the TLC plates were dried in an air stream and were put on the TLC scanner. Radiochemical purity was defined as the percentage of the radioactivity present in the radionuclide of the specified chemical form of interest (free  $^{18}\text{F}$ , [ $^{18}\text{F}$ ]FDG, acetylated [ $^{18}\text{F}$ ]FDG) from the total radioactivity of the radionuclide present in Rf preparation, respectively.

#### Reproducibility

Reproducibility was performed under the same operating conditions on the same day, comparing the results obtained on three different days (three different series) and by two different analysts. From the obtained results, arithmetic means ( $\bar{X}$ ), as well as standard deviation (s) and coefficient of variation (%CV) between series and between analysts, were calculated:

$$CV(\%) = s/\bar{X} \times 100\%$$

#### Specificity

The specificity of the method was performed by injecting standard solutions (standards from

ABX advanced biochemical compounds; Radeberg, Germany): 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG), 2-fluoro-2-deoxy-D-mannose (FDM) and comparing the retention time of each standard. 3 lots of [ $^{18}\text{F}$ ]FDG (in 3 replications) were also used for specificity tests to estimate the retention time of [ $^{18}\text{F}$ ]FDG and impurities.

All set criteria for reproducibility (the method showed a coefficient of variation below 5%) and specificity (peaks kept well resolved; method can separate the component of interest from other components in the product, the peaks are characteristic for standards) of the TLC method were met. The TLC method was found to be reproducible and specific for [ $^{18}\text{F}$ ]FDG determination.

##### **The validation of a method for determination of chemical and radiochemical purity of $^{18}\text{F}$ FDG – the HPLC method**

The chromatographic method for determining the chemical and radiochemical purity was validated according to ICH (The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) standards.

The validation of the specificity and reproducibility parameters was carried out on five series of [ $^{18}\text{F}$ ]FDG. The method was consistent with the pharmacopoeial monograph: FP XI FDG: 07/2008: 1325.

The equipment used to perform determination was a high-performance liquid chromatograph – Shimadzu Prominence UFLC, LC20 AD pump, which was equipped with both the RayTest Gaby Star gamma radiation detector and the DECADE II electrochemical detector. The separation was obtained using a strong anion exchange column (DIONEX CarboPac PA10  $\mu\text{m}$  size pore;  $4 \times 250$  mm with precolumn Dionex Amino Trap  $4 \times 50$  mm) and mobile phase 0.1 M NaOH solution. The volume of the injection was 10  $\mu\text{L}$  and the flow rate of the mobile phase was set at 1.0 mL/min, with a total run of 25 minutes, at 25°C.

#### Reproducibility

Reproducibility was performed under the same operating conditions on the same day, comparing the results obtained on five different days (five different series) and by two different analysts. From the obtained results, arithmetic means ( $\bar{X}$ ), as well as standard deviation (s) and coefficient of variation (%CV) between series and between analysts, were calculated:

$$CV(\%) = s/\bar{X} \times 100\%$$

### Specificity

In order to demonstrate the specificity of the method, the analysis was performed for a series of standard solutions (standards from ABX advanced biochemical compounds; Radeberg, Germany): 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG), 2-chloro-2-deoxy-D-glucose (CIDG), 2-fluoro-2-deoxy-D-mannose (FDM). Sodium chloride and 3 lots of [<sup>18</sup>F]FDG (in 3 replications) were also used for specificity tests.

All set criteria for reproducibility (the method showed a coefficient of variation below 5%) and specificity (peaks kept well resolved; method can separate the component of interest from other components in the product) of the HPLC method were met. The HPLC method was found to be reproducible and specific for [<sup>18</sup>F]FDG determination.

### Quality control

The radiochemical purity of the [<sup>18</sup>F]FDG solution was assessed on the basis of ascending TLC, using strips (10 × 2 cm) of Silica Gel. A Raytest gamma radiation detector with a NaI 3"×3" scintillation crystal was used to assess the radiometric purity. An acetonitrile/water solution (Acetonitrile for HPLC; SIGMA, water for HPLC; POCH) prepared in a ratio of 95/5 was used as the mobile phase. After applying the [<sup>18</sup>F]FDG sample to the starting side on the TLC strip and drying the applied spot, the strip was placed in a closed glass chromatography chamber, in which stretching took place in a mobile phase solution. The solvent front reached 8 cm from the starting point. After removal from the chamber, the strips were air-dried and then placed on a sliding radiometric detector table that recorded the decay of the identified isotopes over time. Based on the results of the analyses, it was possible to determine the percentage of fluorine-18 in the form of 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-glucose and 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-mannose and radiochemical impurities: fluorine-18 in the form of fluoride and partially or fully acetylated derivatives of 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-glucose and 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-mannose.

#### Limit values of radiochemical purity tested by TLC:

*a. fluorine-18 in the form of 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-glucose and 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-mannose not less than 95% of the total radioactivity of fluorine-18.*

*b. fluorine-18 in the form of fluoride and partially or fully acetylated derivatives of 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-glucose and 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-mannose not more than 5% of total radioactivity of fluorine-18.*

The radiochemical and chemical purity of the [<sup>18</sup>F]FDG solution was tested by HPLC (SHIMADZU multi-module device) with the use of detectors connected in series - radiometric (NaI 3 × 3 inch scintillation crystal) by Raytest and electrochemical Decade II (gold electrode, by Antec). Ion-exchange chromatography columns dedicated to the separation of carbohydrates - Dionex CarobPac (250 × 4; 10 μm) with pre-column retaining amino acids - Dionex (50 × 4) were used for the analysis. Both columns were in a thermostatic oven which was kept at a constant temperature of 25°C. The mobile phase was 0.1 M aqueous NaOH solution, prepared from 50% NaOH solution (SIGMA) and HPLC water (POCH), degassed with helium both during column conditioning and analysis. The analysis lasted 25 minutes. The injection volume was 10 μL. After the analysis was completed, the chromatograms obtained from both detectors were integrated using LabSolution software. The radiochemical purity was assessed on the chromatogram obtained from the radiometric detector as the percentage of fluorine-18 in the form of 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-glucose and 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-mannose. The chemical purity, i.e. the content of 2-chloro-2-deoxy-D-glucose (CIDG), was assessed on the chromatogram obtained from the electrochemical detector.

*c. Limit values of radiochemical purity tested by HPLC: fluorine-18 in the form of 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-glucose and 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-mannose not less than 95% of the total radioactivity of fluorine-18.*

*d. Limit values of chemical purity tested by HPLC: 2-chloro-2-deoxy-D-glucose (CIDG) content of ≤ 0.5 mg / V; where V = 5 mL, i.e. ≤ 0.1 mg / mL.*

The pH value of the [<sup>18</sup>F]FDG solution was tested with the potentiometric method using a SI Analytics microelectrode and a Martini Mi150 pH meter, by immersing the electrode directly in the solution of the radiopharmaceutical to be tested. Before starting the work, the pH-meter was calibrated with two Millwaukee pH 4.1 and 7.1 buffer solutions. The pH was read after its value stabilized on the instrument display.

*e. Limit values: pH 4.5 to 8.5.*

### Statistical analysis

Statistical analysis was performed using STATISTICA™ 13.1 software (DELL Inc., United States). The normality of data distribution was tested using the Shapiro-Wilk test. Levene's test was used to determine the homogeneity of variance between groups. All parameters demonstrate non-normal distribution or heterogeneity of variance. The data

Table 1. The influence of hydrolysis time on chemical/radiochemical purity of [<sup>18</sup>F]FDG and pH.

Parameter (method)	Limits of acceptance	Results: Hydrolysis time [min]			P
		8 (n = 21)	10 (n = 21)	12 (n = 21)	
[ <sup>18</sup> F]FDG (TLC) [%]	≥ 95	96.05† 95.69; 96.34 (95.19-97.75)	98.23† 97.71; 98.63 (97.11-100.00)	99.65† 99.06; 99.75 (98.79; 100.00)	<0.001
Acetyl (TLC) [%]	≤ 5	3.81† 3.51; 4.19 (2.34-4.78)	1.80† 1.26; 2.01 (0.00-2.74)	0.35† 0.22; 0.75 (0.00-1.12)	<0.001
[ <sup>18</sup> F]FDG (HPLC) [%]	≥ 95	99.681 99.539; 99.755 (99.120-100.00)	99.616 99.529; 99.704 (99.263-99.822)	99.678 99.601; 99.784 (99.293-99.874)	0.374
CIDG (HPLC) [mg/mL]	≤ 0,1	0.001 0.001; 0.002 (0.001-0.002)	0.001 0.001; 0.001 (0.001-0.002)	0.001 0.001; 0.001 (0.000-0.005)	0.896
pH [ <sup>18</sup> F]FDG	4.5-7.1	6.85†‡ 6.68; 7.11 (6.40-7.96)	5.95† 5.75; 6.02 (5.50-7.00)	6.12‡ 6.03; 6.21 (5.92-6.65)	<0.001

n: number of samples, Me: median, IQR: interquartile range,

p: p-value (obtained with the Kruskal-Wallis test)

† ‡ result of multiple comparisons of mean ranks - p<0.05

are expressed as a median (Me), interquartile range (IQR), and minimum-maximum value (Min-Max). The groups were compared using the Kruskal-Wallis test. A 0.05 level of significance was used. Multiple comparisons of mean ranks for all groups were performed for variability with a p-value lower than the level of significance.

## RESULTS

The reaction was performed for three different hydrolysis times of 8, 10, and 12 minutes. Each type of synthesis was performed 21 times. A general summary of results is collected in Table 1.

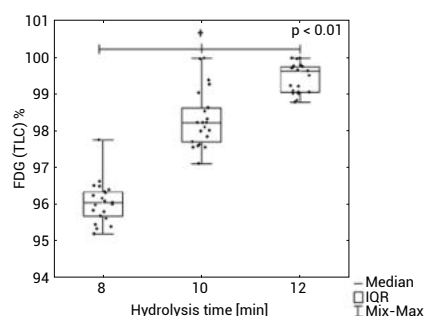


Figure 1. The influence of hydrolysis time on radiochemical purity of [<sup>18</sup>F]FDG [%]; TLC method.

## Assessment of radiochemical purity of [<sup>18</sup>F]FDG solution by TLC

The TLC results obtained during 8, 10, and 12 minutes of hydrolysis are within the limits (Table 1). Extending the hydrolysis time from 8 to 10 and 12 minutes caused an increase in the percentage of fluorine-18 in the form of 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-glucose and 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-mannose (Figure 1), as well as a decrease in the percentage of fluoride-18 as fluoride and partially or fully acetylated derivatives of 2-[<sup>18</sup>F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose and 2-[<sup>18</sup>F]-fluoro-2-deoxy-D-mannose (Figure 2). All results are statistically significant.

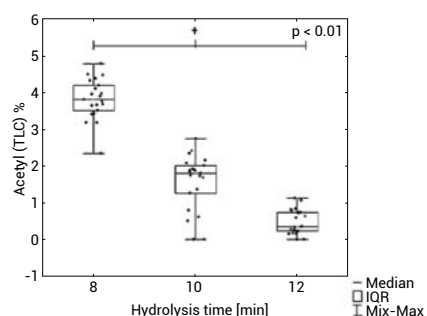


Figure 2. The influence of hydrolysis time on acetyl-derivatives of [<sup>18</sup>F]FDG concentration [%]; TLC method.



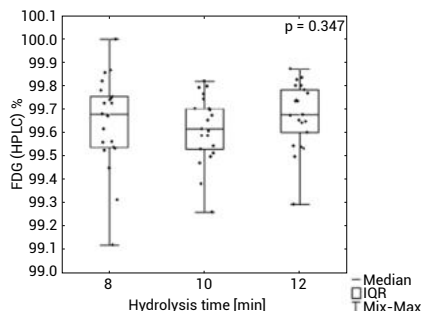


Figure 3. The influence of hydrolysis time on radiochemical purity of  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  [%]; HPLC method.

#### Assessment of radiochemical and chemical purity of $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ solution by HPLC

The HPLC results obtained during 8, 10, and 12 minutes of hydrolysis are within the limits (Table 1). Extending the hydrolysis time from 8 to 10 and 12 minutes did not affect the radiochemical purity as a percentage of fluorine-18 in the form of 2- $[^{18}\text{F}]\text{fluoro-2-deoxy-D-glucose}$  and 2- $[^{18}\text{F}]\text{fluoro-2-deoxy-D-mannose}$ , nor the chemical purity, in the form of CIDG content (Figure 3, Figure 4).

#### DISCUSSION

The individual stages of  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  synthesis and purification are aimed at producing a radiopharmaceutical of the highest purity, meeting all the quality requirements of the Polish Pharmacopoeia (FP XI) and/or the European Pharmacopoeia (Ph. Eur. IX). The method of synthesis and purification, with a properly programmed automatic procedure, which is important for the amount of added reagents, temperature, and duration of individual stages, affects the amount of radiochemical and chemical

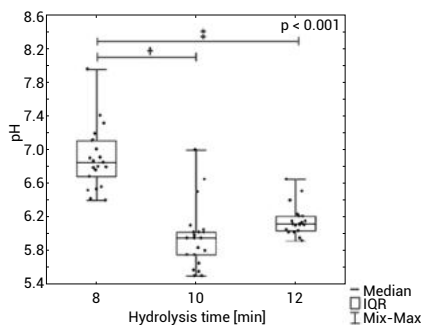


Figure 5. The influence of hydrolysis time on pH of  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ .

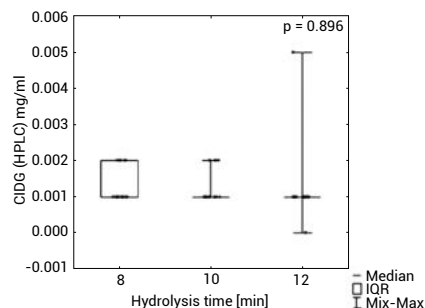


Figure 4. The influence of hydrolysis time on chemical purity, CIDG concentration [mg/mL]; HPLC method.

contamination and the correct value of the pH of the produced radiopharmaceutical.

The tests show that a hydrolysis time of 8 minutes is the minimum time for which the protected derivatives of  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  should be exposed to hydrochloric acid in order to disconnect the protecting groups (acetyl) in a quantity that exceeds the acceptance threshold for radiochemical purity while maintaining chemical purity and pH value.

Statistical analysis shows that all results obtained during the hydrolysis of 8 minutes are within the limit values for all measurement methods. However, in the case of a measurement carried out with the use of TLC, some of the results are on the acceptance/rejection threshold. It would seem that the release of the product to a patient with a borderline result is not a problem because it is within the acceptance criteria, which means that the product can be released for administration at a given moment. However, in the case of product stability testing, which consists in proving that throughout its shelf-life a drug remains effective and safe for the patient, a borderline acceptance/rejection result may have an impact on the success of the test. A negative result of the test may be affected by the measurement error of the device and operator error (human).

The study proved that the change of a single synthesis parameter has a significant impact on the quality control results. This parameter is the hydrolysis time, the elongation of which has a significant effect on improving the purity of the final  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  product (Table 1, Figure 1).

Extension of the hydrolysis time to 14, 16, 18, and 20 minutes, has no significant effect on the quality control results. Extending the hydrolysis time from 8 minutes to 10 and then to 12 minutes reduced the amount of partially or fully acetylated derivatives in the final product (Table 1, Figure 2). The results

are statistically significant. The extension of the hydrolysis time did not affect the radiochemical purity (Table 1, Figure 3) and did not increase the content of 2-chloro-2-deoxy-D-glucose (chemical purity) resulting from the replacement of the  $^{18}\text{F}$ - anion with Cl- during the action of hydrochloric acid on mannose triflate (Table 1, Figure 5).

The prolonged time of hydrolysis had an effect on the reduction of the pH value (Figure 5), which was caused by the increase in the amount of acetic acid formed after the cleavage of the acetyl groups from 1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2- $^{18}\text{F}$ fluoro- $\beta$ -D-galactopyranose. There is a correlation between the decrease in the amount of acetylated derivatives and the decrease in the pH value. The pH value, although not reliable, may give the first indication of whether the amount of acetyl  $^{18}\text{F}$ FDG impurity is high or low.

Improving the radiochemical purity while maintaining high chemical purity and the pH value at increasing the hydrolysis time by 4 minutes from the initial value of 8 minutes is negligible. Assuming that the average activity obtained from the cyclotron and sent to the synthesis module was 120 GBq, the decrease in activity after 4 minutes is 3 GBq.

The dose required for testing in accordance with the reference procedures for nuclear medicine is 5–7 MBq/kg. This means that for a patient weighing 70 kg, the dose of radiopharmaceutical administered has an activity of 350–490 MBq, and assuming that the quality control result for acetyl derivatives was on the borderline of acceptance/rejection, the patient could receive about 17.5–24.5 MBq of impurities.

The dose of diagnostic value would be reduced by the activity of the contaminants. Acetyl impurities are hydrolyzed and metabolized in tumor cells to 2-fluoro- $^{18}\text{F}$ -2-deoxy-D-glucose and then to 2-fluoro- $^{18}\text{F}$ -2-deoxy-D-glucose-6-phosphate. They have no negative impact on the patient's health and the result of the diagnostic procedure. The mechanism of the transport of acetyl derivatives into the cell is GLUT independent. These compounds are highly lipophilic and penetrate the cell membrane by simple diffusion. Its detail of character is still unknown, but further basic, as well as clinical trials using such well-characterized tracers, will provide new perspectives in the field of oncology (11).

## CONCLUSIONS

Extending the hydrolysis time significantly increased the radiochemical purity of the final product, improving its quality parameters while maintaining the chemical purity and pH value, and with only a slight loss of activity.

The result on the borderline of acceptance/rejection may negatively affect the stability test. Increasing the radiochemical purity avoids the invalidation of this test due to the influence of the measurement error of the device and possible operator error (human).

Minimizing contamination reduces impact GLUT independent tumor cell accumulation of  $^{18}\text{F}$ FDG, which its detail of character is still unknown.

## Conflicts of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

## REFERENCES

1. Ziegler S.I.: Nucl. Phys. A. 752, 679 (2005).
2. Goldman L.W.: J. Nucl. Med. Technol. 35, 115 (2007).
3. Vogel W.V., Oyen W.J.G., Barentsz J.O., Kaanders J.H.A.M., Corstens F.H.M.: J. Nucl. Med. 45, 15 (2004).
4. Malenda A., Nowis D.A.: Hematologia 4, 227 (2013) (in Polish).
5. Józwiak P., Lipińska A.: Postepy Hig. Med. Dosw. 66, 165 (2012) (in Polish).
6. Dudziak K., Regulska-Ilow B.: Postepy Hig. Med. Dosw. 67, 449 (2013) (in Polish).
7. Izuishi K., Yamamoto Y., Mori H., Kameyama R., Fujihara S., et al.: Oncol. Rep. 31, 701 (2014).
8. Ruangma A.: BKK Med. J. 5, 80 (2013).
9. Królicki L., Kunikowska J., Kobylecka M., Mączewska J., Fronczewska K.: Post. Nauk Med. 24, 104 (2011) (in Polish).
10. Jacobson O., Kiesewetter D.O., Chen X.: Bioconjugate Chem. 26, 1 (2015).
11. Waki A., Fujibayashi Y., Magata Y., Yokoyama A., Sadato N., et al.: J. Nucl. Med. 39, 245 (1998).



Wędrowski Mateusz, Waśniowski Paweł, Wędrowska Ewelina, Piskorska Elżbieta, Czuczejko Jolanta, Malkowski Bogdan, Zukow Walery. Synthesis and application of (<sup>18</sup>F) fluorodeoxyglucose in oncology diagnosis. Journal of Education, Health and Sport. 2017;7(12):481-500. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1164181>  
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/jobs/article/view/5245>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 1223 (26.01.2017).

1223 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Authors 2017;

This article is published with open access at License Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium,

provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial

use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 02.12.2017. Revised: 15.12.2017. Accepted: 31.12.2017.

## Synthesis and application of (<sup>18</sup>F) fluorodeoxyglucose in oncology diagnosis

Mateusz Wędrowski<sup>1,2</sup>, Paweł Waśniowski<sup>3,2</sup>, Ewelina Wędrowska<sup>4</sup>,  
Elżbieta Piskorska<sup>5</sup>, Jolanta Czuczejko<sup>2</sup>, Bogdan Malkowski<sup>1,2</sup>, Walery Zukow<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Department of Positron Emission Tomography and Molecular Diagnostics, Nicolaus Copernicus University Collegium Medicum, Bydgoszcz, Poland

<sup>2</sup>Nuclear Medicine Department, Oncology Centre, Bydgoszcz, Poland

<sup>3</sup>Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Nicolaus Copernicus University Collegium Medicum, Bydgoszcz, Poland

<sup>4</sup>Department of Gene Therapy, Faculty of Medicine, Nicolaus Copernicus University  
Collegium Medicum, Bydgoszcz, Poland

<sup>5</sup>Department of Pathobiochemistry and Clinical Chemistry, Nicolaus Copernicus  
University Collegium Medicum, Bydgoszcz, Poland

<sup>6</sup>Faculty of Earth Sciences, Nicolaus Copernicus University, Toruń, Poland

Corresponding author:

Ewelina Wędrowska

Zakład Genoterapii Collegium Medicum UMK

85-094 Bydgoszcz, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9

tel. +48 517-545-893

e-mail: ewelina.wedrowska@gmail.com

### **Abstract**

[<sup>18</sup>F] Fluorodeoxyglucose ([<sup>18</sup>F] FDG) is the most commonly used radiopharmaceutical in clinical positron emission tomography (PET) in oncology. Cancer cells create their own specific microenvironment to survive and grow. Specific tumor microenvironment contributes to cancer metabolic reprogramming. Therefore,

even with sufficient oxygen availability, cancer cells choose anaerobic glycolysis. Cancer cells compensate less energy efficient process by increasing the intensity of anaerobic glycolysis. Tumor cells have a high rate of metabolism and because of this, they take up more of the radioactive glucose (FDG). This makes the tumor cells appear more visible than other areas on the PET scan pictures.

This paper presents nucleophilic synthesis of the [ $^{18}\text{F}$ ] FDG marker and basics of tumor development which can affect the [ $^{18}\text{F}$ ] FDG biochemical significance. Reference was made to clinical images obtained in PET technology using the [ $^{18}\text{F}$ ] FDG radiopharmaceutical.

**Key words:** synthesis [ $^{18}\text{F}$ ] FDG, glucose metabolism, [ $^{18}\text{F}$ ] FDG metabolism, positron emission tomography.

### **Introduction**

The radiopharmaceutical consists of two basic parts, a carrier and an isotope. The carrier is a biologically active chemical compound involved in important biochemical processes, and the short-lived isotope is a positron emitter. Its task is to generate a signal that will be recorded by external detectors. The vehicle is labeled by placing a radioactive isotope molecule in its structure.

In the case of [ $^{18}\text{F}$ ] fluorodeoxyglucose, [ $^{18}\text{F}$ ] FDG, the carrier is a 2-deoxy-D-glucose molecule, and the radioactive isotope placed in its structure is fluorine [ $^{18}\text{F}$ ].

[<sup>18</sup>F] FDG is the most widely used radiopharmaceutical in the diagnosis of PET, showing various types of tumors characterized by increased glucose metabolism. The widespread use and commercialization of the [<sup>18</sup>F] FDG radiotracer contributed to the development of high-throughput synthesis methods, carried out using automated radiochemical modules [1,2].

The half-life of <sup>18</sup>F isotope used for the production of [<sup>18</sup>F] Fluorodeoxyglucose is 110 minutes. It is long enough from the point of view of proper marker preparation and performance of the test procedure. The advantageous feature of the <sup>18</sup>F isotope is the access to efficient cyclotron production that gives the possibility of obtaining the isotope in large quantities. In addition, <sup>18</sup>F is characterized by high chemical reactivity and in chemical reactions it can be both a donor (nucleophile) and an electron acceptor (electrophile) [3].

#### **Purpose of work**

The aim of this study is to present nucleophilic synthesis of the [<sup>18</sup>F]FDG marker and basics of tumor development which can affect the [<sup>18</sup>F]FDG biochemical significance. The reference was made to clinical images obtained in PET technology using the [<sup>18</sup>F] FDG radiopharmaceutical.

### **Description of knowledge**

Physical aspects of imaging techniques using properties of radiopharmaceuticals.

Positron emission tomography is a emission method using positron emission tomography using [<sup>18</sup>F] FDG (PET). In contrast to the absorption methods, in the PET method, the image is generated on the basis of information sent from the object, which requires placing the source of this information in the tested object. The carrier of information in the PET technique is the quantum of gamma radiation, while the source of emitted radiation is the radiopharmaceutical collected in the body.

PET technology is based on the use of isotopes being positronium emitters. The proton p in the nucleus of the isotope degrades  $\beta^+$  ( $p \rightarrow n + e^+ + \nu_e + Energy$ ), in the radiopharmaceutical molecule, as a result of which neutron n is formed in the nucleus and electron neutrinos  $\nu_e$  and positronium  $e^+$  emitting electron surplus are emitted from the nucleus. Positronium collisions with electrons is the center, staying a little way up to the loss of most of their energy. In the next step, he annihilates with the electron turning his mass into energy emitted in the form of two gamma quanta, 511 keV each, in opposite directions. Annihilation is the basis on which PET technology is based (Fig. 1) [1].

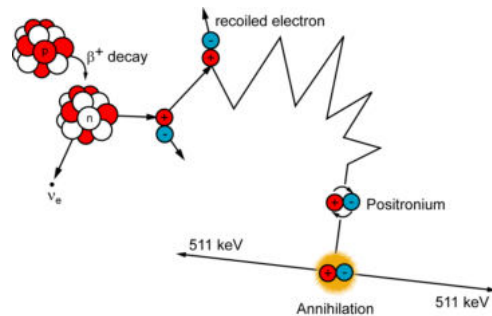


Fig. 1. The scheme of positronium decay and annihilation

If two scintillation detectors from the detector ring in a PET scanner, register a pulse in the same time window, so-called the coincidence window, we can assume that the line of annihilation has taken place between the two detectors and the radiopharmaceutical molecule must be there. This line is called the LOR (line of response) event line. The intersection of these roads indicates a greater concentration of the marker and is the basis for the reconstruction of images in PET diagnostics. The electronic coincidence allows direct determination of the direction from which information comes, so there is no need for additional collimators. Due to this, the sensitivity of the PET scanner is better than in the gamma cameras. In the case of pathological changes, the marker accumulates in a given process or place in the body, which gives the possibility of imaging at the tissue level. In that manner, PET technology allows to recognize pathological changes in their initial stages, the fastest among diagnostic imaging methods. This happens because biochemical changes are ahead of structural changes. However, the limited spatial resolution of PET images



reduces the amount of anatomical information. For this reason, at present, PET technology is most often fused with another medical imaging method that gives more structural information [4].

Other CT imaging methods include CT and MR. CT (computed tomography) is a diagnostic method using X-rays to obtain anatomical images containing information about the structure of organs and tissues. The fusion of PET and CT methods allows for more precise localization of the disease focus in the patient's body [5, 6]. Currently, among modern diagnostic solutions, fusion of PET and MR (magnetic resonance) methods is now available for patients. MR uses the properties of protons from the nuclei of hydrogen atoms in our body in the form of water molecules. Dipole water molecules containing hydrogen protons in their composition, in a strong magnetic field, magnetize, but after removing the field they return to the "balance" by sending radio waves that are registered by the detectors and based on them determines the density of the tested object as the basis for image reconstruction. One of the purposes of combining these two techniques is to obtain structural information of the object being imaged, similar to the case of PET / CT fusion. The advantage of PET / MR is, among others, on better imaging performance of soft tissues without additional exposure to ionizing radiation that occurs in CT [6,7].

#### Synthesis of [ $^{18}\text{F}$ ] fluorodeoxyglucose using nucleophilic fluorination

##### Cyclotron production of radioactive $^{18}\text{F}$ isotope

This multistage process begins with the production of negatively charged hydrogen ions H-emitted from the ion source in the cyclotron. The ion source is supplied with hydrogen gas, which undergoes ionization due to the high potential between the cathode and the anode. Ionized hydrogen forms a plasma from which

negative ions are emitted into the accelerating region. These ions are introduced between the cyclotron electrodes of the so-called duant. Initially, the electric potential of the duant is positive in order to attract a negatively charged hydrogen ion, when the ion reaches the edge of the duant, the voltage potential changes to negative. The electric field is responsible for accelerating the ion beam, thus increasing their energy. The applied magnetic field curves the trajectory of charged particles directing them on a spiral trajectory in a cyclotron. Acceleration must take place in the vacuum chamber so that the particle does not lose energy during collisions, too low a vacuum could be a source of additional radionuclides. Ions H-obtained energy 11 MeV (energy of ejection), are directed to carbon film, which deprives hydrogen anions of two electrons. Depending on the model of the cyclotron, an inverting force with an inverted direction acts on the electrically modified H + particles, directing the ions to the cyclotron discs. The discs are made of chemically inert metals, i.e. titanium, niobium, tantalum. The disc substance is water enriched with oxygen isotope [18O] H<sub>2</sub>O. The nuclear reaction used to obtain <sup>18</sup>F<sup>-</sup> is <sup>18</sup>O(p,n) <sup>18</sup>F [8,9,10].

#### Uptake, purification and release of radioactive <sup>18</sup>F isotope

The <sup>18</sup>F ion produced is in an aqueous solution. It is associated with a positively charged particle, a metal cation from the cyclotron target. In addition to the metal cation, water also lowers fluoride ion activity by forming hydrogen bonds with it. In the further stages of the synthesis, remove water together with metal cations from the reaction environment.

In order to separate <sup>18</sup>F<sup>-</sup> ion impurities to lower its activity fluoride solution and water is passed through an ion exchange column. The most commonly used column is QMA Sep - Pak light, which is filled with an organic polymer connected to

hydrocarbon chains containing at their ends - NR<sub>3</sub><sup>+</sup> groups derived from quaternary ammonium salts. This group gives the ends of the hydrocarbon chain a positive charge. The counterion counterbalancing the positive charge of the end of the hydrocarbon chain are carbonate anions CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> [11].

Anion exchange takes place on the column, fluoride is retained on the column's deposits, and water along with metal ions and CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> groups flows to the reclaimed water vessel [12].

The next step is to recover the fluoride anion from the QMA Sep - Pak light column by elution using the water - acetonitrile solution of Kryptofix (Kryptand 222) and K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Cryptands are organic compounds obtained synthetically, capable of forming complexes due to the structural matching of the metal cation to the cavity of the macrocycle system. In addition, they have the ability to transfer ions from the aqueous phase to the organic so-called the catalysis of interfacial transfer, desired in this type of reaction [13,14].

Kryptofix binds in its structure - the recess, the K<sup>+</sup> cation derived from potassium carbonate. The potassium cation becomes a counterion to which for <sup>18</sup>F<sup>-</sup> it has a higher affinity than to the positive ends of the hydrocarbon chain and is thus released from the QMA Sep-Pak light column and goes into the reaction vessel. In the presence of the Kryptofix structure, the K-<sup>18</sup>F bond weakens, and the fluoride anion becomes more aggressive and chemically reactive. In addition, the used cryptand transports the F-anion in the form of the K-<sup>18</sup>F complex from water to the aprotic solvent, which is acetonitrile [15,16,17].

During the elution, water residues also get into the reaction vessel, which must be removed. The acetonitrile present in the reaction vessel forms an azeotropic mixture with water. Evaporation of acetonitrile under a nitrogen atmosphere occurs at the

same time as evaporation of the rest of the water. In automatic synthesizers this process is repeated several times [12,15,16,17].

#### Nucleophilic substitution with radioactive fluorine to the precursor

The purified, dried and high-activity fluoride anion is ready for nucleophilic substitution. The most frequently used precursor in the production of [ $^{18}\text{F}$ ] FDG is 1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-trifluoromethanesulfonyl- $\beta$ -D-mannopyranose commonly known as mannose triflate. The precursor used possesses a trifluoromethanesulfonate leaving group at the 2-position (triflate), in position 1,3,4,6 protecting groups - acetyl. During the nucleophilic substitution reaction, the trifluorous group is replaced by the  $^{18}\text{F}$  fluorine isotope and the inversion of the spatial system of the C2 sugar substituents is made according to the mechanism of the 2D Snofotylic Snap ( $\text{S}_\text{n}2$ )nucleophilic substitution. The marking temperature should be 90 - 100 ° C, and the process should last a maximum of 5 minutes. Only after the fluoridation is completed, the aprotic solvent evaporates, supported by neutral gas [11,18].

#### Hydrolysis of the intermediate product

The final stage of the synthesis is the removal of protecting groups from the tetraacetyl - [ $^{18}\text{F}$ ] FDG sediment. The reaction takes place with hydrochloric acid at elevated temperature. Hydrolysis can also be carried out with a strong sodium base, the use of which does not require heating the solution, and this process takes place faster [19].

#### Purification of the final product

The purification of the crude end product is carried out by passing the final product mixture through a series of columns. The cation exchange column removes

the K<sup>+</sup> / K222 complexes, the ion delaying column neutralizes the acid, the column with neutral alumina removes unreacted 18F anions, the C18 column removes tetra-acetyl [<sup>18</sup>F] FDG (Fig. 2) [20].

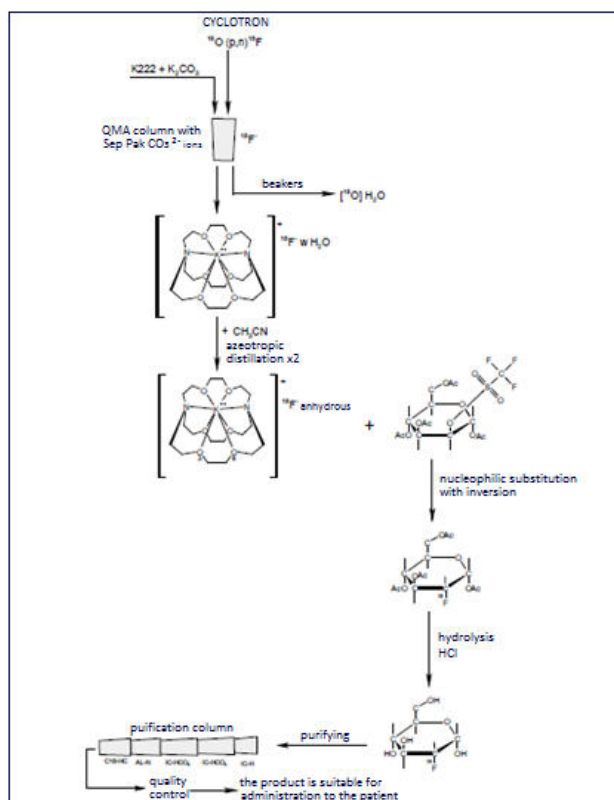


Fig. 2. Synthesis [<sup>18</sup>F] FDG

## Metabolism of glucose and [18F] FDG in cancerous cells

Cancerous cells are characterized by unlimited replication potential, production of their own growth factors, resistance to apoptosis, ability to create their own blood vessel network, inducing inflammation, ignoring signals inhibiting proliferation and different cellular metabolism [21].

Cancerous cells, to survive and grow, create their own specific microenvironment. One of the most important elements of creating such conditions is the ability of the tumor to create its own blood vessel network - angiogenesis. This network participates in supplying cells with nutrients, growth factors, adequate amount of oxygen and removing unnecessary metabolic substances. In physiological as well as tumor angiogenesis, vascular endothelial growth factor (VEGF) plays a major role. The nascent tumor network is significantly different from normal vessels. These are immature vessels with a disordered structure and variable blood flow resulting in cyclical, variable hypoxia. Lack of oxygen activates proangiogenic factors (including VEGF) inducing the formation of consecutive abnormally developed vessels. In this environment, the cancer metabolism is reprogrammed [22,23]. Activation of HIF1 $\alpha$  hypoxia-inducible transcription factor (hypoxia inducible factor 1 $\alpha$ ) leads to inhibition of mitochondrial respiration and shifting glucose metabolism towards glycolysis. At the biochemical level, this occurs as a result of the inactivation of pyruvate dehydrogenase by the pyruvate dehydrogenase kinase and leads to a reduction of the conversion of pyruvate to acetyl-CoA. In addition, HIF1 $\alpha$  is responsible for changes in the expression of many genes,

including overexpression of the glucose transporter 1 - GLUT 1 (glucose transporter 1) and enzymes involved in the glycolysis process. All these factors affect the increase in glucose metabolism [24].

Correct cells in the glycolysis process, under conditions of sufficient access to oxygen, metabolize glucose to pyruvate. Then acetyl - CoA formed from the pyruvate oxidation enters the Krebs cycle in which it undergoes oxidation to CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O. As a result, one mole of glucose provides 30 (or 32) moles of ATP. Under conditions of limited access to oxygen, pyruvate is converted to lactic acid, of which only 2 moles of ATP are formed [25, 26]. Tumor-altered cells, even with sufficient oxygen availability, opt for anaerobic glycolysis, although it provides small amounts of ATP. This is because in the glycolysis process intermediate products are created, needed, among others for the synthesis of nucleic acids, proteins and lipids. Cancerous cells compensate for the choice of a less efficient process by increasing the intensity of anaerobic glycolysis 124 times. Increasing the intensity of this process increases the formation of intermediate products, sustains the supply of energy and nutrients at an appropriate level [21,24,27].

The described tumor feature was used in the diagnosis of tumor focuses using the positron emission tomography method using [<sup>18</sup>F] FDG. This compound is transported and metabolized by the same mechanisms as glucose, but there are some differences on the pathway. [<sup>18</sup>F] FDG is phosphorylated by hexokinase to 2- [<sup>18</sup>F] Fluoro-2-deoxy-glucose-6-phosphate and in this form it accumulates in tumor cells because 2- [<sup>18</sup>F] Fluoro-2-deoxy-glucose-6-

phosphate is not further transformed by phosphoglucose isomerase, due to the lack of adaptation of the enzyme to the molecule of this compound. After the  $^{18}\text{F}$  radioactive decomposition embedded in the  $[\text{}^{18}\text{F}]$  FDG molecule, the oxygen formed with  $^{18}\text{F}$  combines with the hydrogen molecule to form a group  $[\text{}^{18}\text{O}]$  -OH at the C2 carbon of glucose. The resulting glucose-6-phosphate is then converted by phosphoglucose isomerase and can undergo further transformation in the glycolysis process (Figure 3) [28].

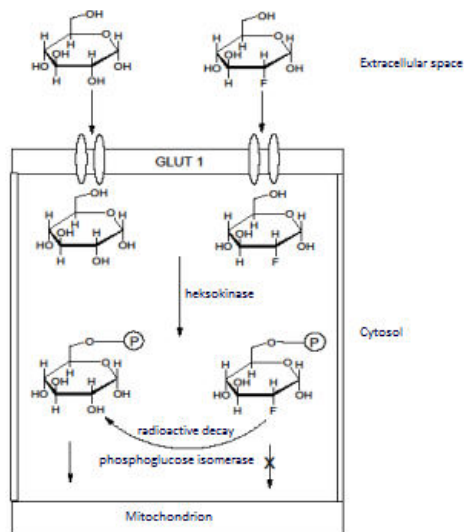


Fig. 3. The mechanism of accumulation  $[\text{}^{18}\text{F}]$  FDG in a cell - a molecular trap



### Tests performed using the described tag

The purified preparation is a sterile colorless liquid which, after dilution with physiological saline, is administered intravenously to the patient for diagnostic purposes. The dose should be in the range of 400 - 700 MBq, in a maximum volume of 5 ml. The preferred techniques for assessing glucose analogue metabolism are PET / CT and PET / MRI. In November 2009, the Committee of the European Society of Nuclear Medicine developed guidelines for the use of PET / CT imaging using [<sup>18</sup>F] FDG in the diagnosis of neoplastic diseases [29].

Examination of [<sup>18</sup>F] FDG PET / CT has a higher sensitivity than CT scan in the diagnosis of a single nodule lung, staging of lung cancer, staging, control treatment and control the treatment of Hodgkin's lymphoma and lymphomas, non-Hodgkin's lymphoma, staging and diagnosis of recurrence in colorectal cancer, assessment of the severity, treatment control and diagnosis of recurrence of esophageal cancer, assessment of the severity of melanoma, especially in patients with suspected metastases to regional lymph nodes and metastases to distant organs [29].

### Medical significance

However, the study using the described analog has some limitations. Too high glucose concentration in the blood of the patient may result in a reduction in [<sup>18</sup>F] FDG uptake at lesion sites, via competitive mechanisms. For this reason, patients are required to remain fasting before PET / CT studies using [<sup>18</sup>F] FDG. Difficulties arise in the diagnosis of patients with diagnosed diabetes. Specific rules for the preparation of patients included in the guidelines EANM- include, inter alia, maintaining an

appropriate interval from the last administered dose of insulin and oral hypoglycemic agents withdrawal.

Figure 4 shows a scan from a PET / CT study using [<sup>18</sup>F] FDG in a patient who received metformin on the day of the study - high activity in the gut. Unfortunately, this mark does not work specifically on cancerous processes. Competitive mechanisms are observed in the case of inflammatory processes and infections.



Fig. 4. PET / CT examination using [<sup>18</sup>F] FDG after taking metformin - high activity in the gut.

Figure 5 shows stimulation in the throat - probably resulting from the ongoing inflammatory process. A significant influence on FDG metabolism has also previous surgery or radiotherapy. However, the clinical situation of the patient does not always allow to maintain an adequate distance between the performed procedures and the PET examination.

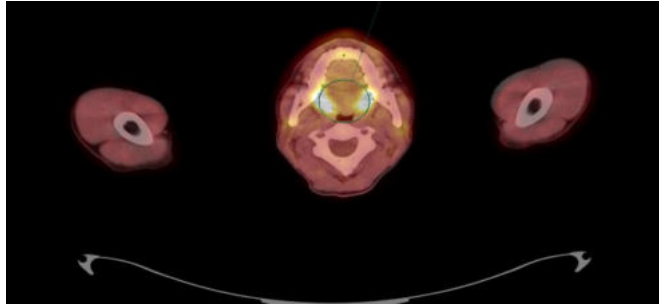


Fig. 5. Throat PET examination using [ $^{18}\text{F}$ ]FDG

Figure 6 shows metabolic stimulation within the uterus resulting from one month before the examination of the cervical conization.

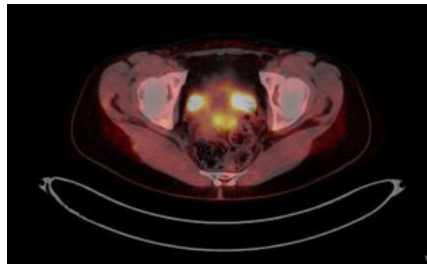


Fig. 6. Uterine PET examination using [ $^{18}\text{F}$ ] FDG

When assessing the PET / CT examination, one should remember first of all about the physiological accumulation of radiopharmaceutical in the heart or liver, as well as due to the secretion in the urine - in the kidneys and bladder - Fig. 7.



Fig. 7. PET/CT examination using [ $^{18}\text{F}$ ] FDG

### Summation

Described in this article [ $^{18}\text{F}$ ] FDG due to its versatility and the possibility of obtaining it in large quantities is the most commonly used radiopharmaceutical in the diagnosis of PET. [ $^{18}\text{F}$ ] FDG, however, possesses some drawbacks such as its non-specific uptake. In many cases highly differentiated tumours are difficult to distinguish from inflammation or infection using this radiopharmaceutical. In addition, [ $^{18}\text{F}$ ] FDG has a limited application in imaging tumors in the brain, muscles and bladder. The solution is to use tags specific to a given type of cancer. Currently, Positron Emission Tomography can choose from a large number of radiotracers: [ $^{11}\text{C}$ ] OCTAN - prostate cancer, [ $^{18}\text{F}$ ] DOPA - diagnosis of Parkinson's disease and neuroendocrine tumors, [ $^{18}\text{F}$ ] FET - brain tumors, [ $^{18}\text{F}$ ] FES - estrogen receptors in breast tumors and many others [30]. This should not be a reason to rest on your laurels. The future of Positron Emission Tomography will depend on research into new radiopharmaceuticals. Search should not be limited only

to the discovery of new molecules and attempts to attach a radioactive isotope to them. Researchers should also consider developing new synthesis methods to accelerate them, improve synthesis modules and isotope production equipment.

### References

1. Ruangma A. FDG-PET and FDG production at Wattanosoth Hospital. *The Bangkok Medical Journal*. 2013; 5: 80 – 90
2. Królicki L, Kunikowska J, Kobylecka M et al. Znaczenie pozytonowej tomografii emisyjnej (PET) w diagnostyce schorzeń onkologicznych, *Post Nauk Med*. 2011; 2:104 – 108
3. Jacobson O, Kiesewetter DO, Chen X. Fluoride – 18 Radiochemistry, Labeling Strategies and Synthetic Routes. *American Chemical Society* 2015; 26: 1-18
4. Ziegler SI. Positron Emission Tomography: Principles, Technology, and Recent Developments. *Nuclear Physics*, 2005; 679–687
5. Goldman LW. Principles of CT and CT Technology. *J. Nucl. Med. Technol*. 2007; 25, 3: 115-128
6. Vogel WV, Oyen WJG, Barentsz JO et al. PET/CT: Panacea, Redundancy, or Something in Between? *J. Nucl. Med*. 2004; 45: 15-24
7. Gibby WA. Basic principles of magnetic resonance imaging. *Neurosurg Clin N Am*. 2005; 16: 1-64
8. IAEA International Atomic Energy Agency. Cyclotron Produced Radionuclides: Principles and Practice. Technical Reports Series No. 465, Vienna 2008
9. Dewan L. June 2007 Design and Construction of a Cyclotron Capable of Accelerating Protons to 2 MeV. Bachelor of Science in Nuclear Science and Engineering, Massachusetts Institute of Technology, Department of Nuclear Science and Engineering, <http://web.mit.edu/ldewan/Public/22thesis/22thesis10.pdf>
10. Welch MJ, Redvanly CS. Handbook of Radiopharmaceuticals Radiochemistry and applications. The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England, John Wiley & Sons, 2003, ISBN: 0-471-49560-3
11. Schlyer DJ. PET tracers and radiochemistry. *Ann Acad Med. Singapore* 2004; 33(2):146-54.
12. Krasikova R. PET Radiochemistry Automation: State of the Art and Future Trends in <sup>18</sup>F-nucleophilic Fluorination. *Curr. Org. Chem*. 2013; 17: 2097-2107
13. Kołodziej B. Synteza i badanie struktury iminowych podandów, kryptandów, dendrymerów oraz wybranych podatków i kryptatów o potencjalnym zastosowaniu w medycynie i nanotechnologii. 2008; praca doktorska, Politechnika Szczecińska, Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Zakład Chemii Analitycznej, <http://zbc.ksiaznica.szczecin.pl/dlibra/doccontent?id=2129>
14. Orozbaev B. Dynamika molekularna w ligandach makrocyclicznych typu Podand badana za pomocą Spektroskopii Dielektrycznej i NMR. 2012; praca doktorska, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Fizyki UAM, Zakład Fizyki Makromolekularnej, <https://repozytorium.amu.edu.pl/bitstream/10593/3968/1/Bakyt%20Orozbaev%20%E2%80%93%20Praca%20doktorska.pdf>

15. Yu S. Review of 18F-FDG synthesis and quality control. *Biomed Imaging Interv J.* 2006; 2(4): 57
16. Cai L, Lu S, Pike VW. Chemistry with [<sup>18</sup>F]Fluoride Ion. *Eur. J. Org. Chem.* 2008; 2853–2873
17. Jacobson O, Chen X. PET Designated Fluoride-18 Production and Chemistry. *Curr Top Med Chem.* 2010; 10(11): 1048–1059
18. Osborn NJ, Grigg J, Pettitt RP et al. Fluoridation process for the synthesis of 2 – [<sup>18</sup>F] fluoro – 2 – deoxy – D – glucose. 05813632.6,GB, 19.11.2004, international.
19. Saha GB, „Synthesis of PET radiopharmaceuticals. Basics of PET Imaging, Physics, Chemistry and Regulations. NY Springer Publishing , 2005:113.
20. Scott PJH, Hockley BG. Radiochemical Syntheses, Volume 1: Radiopharmaceuticals for Positron Emission Tomography. John Wiley & Sons, Canada 2011, ISBN 978-0-470-58895-6
21. Malenda A, Nowis DA. Znaczenie metabolizmu glukozy w diagnostyce oraz terapii nowotworów układów krwiotwórczego i chłonnego. *Hematologia* 2013; 4(3): 227–238
22. Szala S. Angiogeneza i immunosupresja: jin i jang progresji nowotworów? *Postepy Hig Med Dosw.* 2009; 63: 598-612
23. Szala S, Jarosz M. Nowotworowe naczynia krwionośne. *Postępy Hig Med Dosw.* 2011; 65: 437-446
24. Józwiak P, Lipińska A. Rola transportera glukozy 1 (GLUT1) w diagnostyce i terapii nowotworów. *Postepy Hig Med Dosw.* 2012; 66: 165-174
25. Ganapathy V, Thangaraju M, Prasad PD. Nutrient transporters in cancer: relevance to Warburg hypothesis and beyond. *Pharmacol. Ther.* 2009; 121: 29–40
26. Ferreira LMR. Cancer metabolism: the Warburg effect today. *Exp. Mol. Pathol.* 2010; 89: 372-380
27. Dudziak K, Regulska-Ilow B. Znaczenie ładunku glikemicznego diety w rozwoju chorób nowotworowych. *Postepy Hig Med Dosw.* 2013; 67: 449-462
28. Izuishi K, Yamamoto Y, Mori H et al. Molecular mechanisms of [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose accumulation in liver cancer. *Oncol. Rep.* 2014; 31: 701-706
29. Obwieszczenie Ministra zdrowia z dnia 22 grudnia 2014 r. w sprawie ogłoszenia wykazu wzorcowych procedur radiologicznych z zakresu medycyny nuklearnej (Dz. Urz. Min. Zdrow., poz. 82)
30. Wadsak W, Mitterhauser M. Basics and principles of radiopharmaceuticals for PET/CT. *Eur J Radiol Open.* 2010; 73:461-469