

ZÁRÓJELENTÉS

a

¹¹C izotóppal jelzett nagy fajlagos aktivitású prekursorok és radiofarmakonok előállítása Pozitron Emissziós Tomográffal történő diagnosztikai vizsgálatokhoz

című pályázatról.

OTKA nyilvántartási szám: **T 048345**
Időtartam (eredeti): **2005. január 1 - 2008. december 31.**
Időtartam (meghosszabbított): **2005. január 1 - 2009. december 31.**
Vezető kutató: **Dr. Kovács Zoltán**
Megvalósítás helye: **MTA Atommagkutató Intézete, Debrecen**

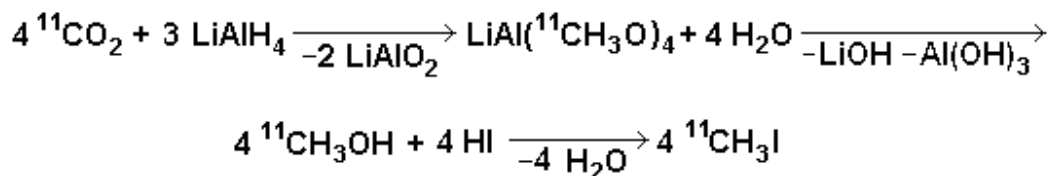
A munkatervben meghatározott célok a következők voltak:

1. 2005-ben: Nagy fajlagos aktivitású [¹¹C]CH₃I prekursor kísérleti előállítása
2. 2006-ban: A [¹¹C]CH₃I prekursor előállító berendezés megépítése
3. 2007-ben: Nagy fajlagos aktivitású [¹¹C]metil-Ro15-1788 (flumazenil) radiofarmakon előállítása
4. 2005-2009-ben
folyamatosan: Közvetlen alkilezés ¹¹C-jelzett olefin intermedierekkel zeolit katalizátoron

1, Az agyvizsgálatokban alkalmazott receptor sűrűség méréséhez az általunk eddig rutinszerűen alkalmazott un. on-column módszer helyett más eljárást fejlesztettünk ki, ami lehetővé teszi a prekursor nagy (kb. 20 Ci/μmol) fajlagos aktivitásban történő gyors, egymás után többször ismételt előállítását. Az eljárás egy on-line módszer, aminek alapját az un. 'drain tube' módszer képezi, ahol a ciklotronban termelt [¹¹C]CO₂ redukciója LiAlH₄-del, a keletkezett lítium-alumínium-¹¹C]metilát komplexhez hidrolízise radiometanollá, valamint a HI-os konverziója Al₂O₃-on [¹¹C]CH₃I-dá egyetlen oszlopon megy végbe. A fajlagos aktivitás csökkenését a légköri CO₂ abszorpciója okozza a LiAlH₄-ben, aminek a teljes kizárása csaknem lehetetlen. Az új eljárásban, az un. 'loop' módszerben LiAlH₄-et (a nagy felületű Al₂O₃ helyett) egy kis holtterefogatú kapilláris reaktorban adszorbeáltattuk, ami lehetővé tette a LiAlH₄, így egyidejűleg az inaktív CO₂ hordozó mennyiségének nagymértékű csökkentését is. A kapilláris reaktorba (ami egy korrózióálló, 3/4 mm-es belső átmérőjű teflon cső) hatállású szelepen keresztül történik meg az összes reakciókomponens beadagolása a következő sorrendben:

LiAlH₄ tetrahidrofurános oldatát adagoltunk be a reaktorba, majd He vivógázzal a felesleget egy másik hatállású szelepen keresztül eltávolítottuk, és a falon adszorbeálódott mennyiséget megszáritottuk. Utána [¹¹C]CO₂ gázt vezettünk a reaktorba, majd a következő lépésben a falon kialakult lítium-alumínium-¹¹C]metilát komplexhez HI-ot adagoltunk be, a hurok két végét lezártuk, és 180 °C-on tartottuk 4 percig. A komplexből keletkezett

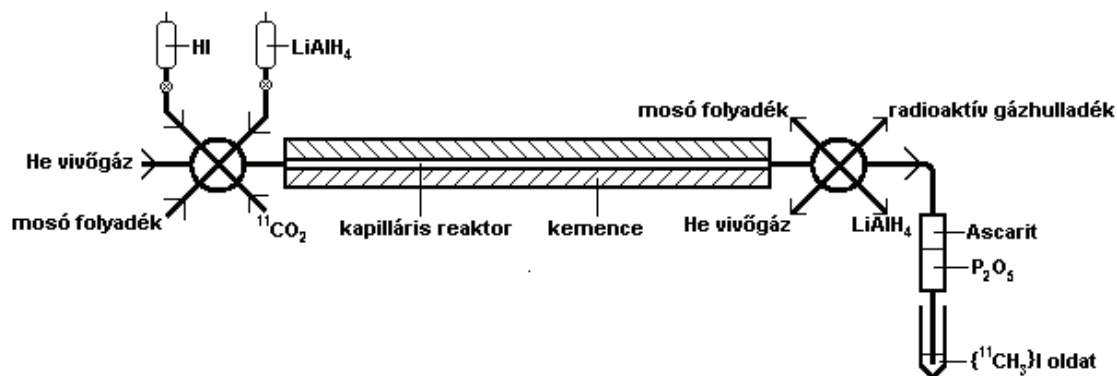
$[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ -ot He vivőgázzal vezettük a metilezést végző reakcióedénybe egyidejűleg a HI felesleg és az esetleg át nem alakult kismennyiségű radiometanol megkötésével. A reakcióképlet a következő:



A berendezés optimalizálás után nagy fajlagos aktivitású (18 ± 3 Ci/mikromol) $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ -ot eredményezett, valamint sósavas/acetonos kimosás után ismételt szintéziseket tett lehetővé hasonlóan optimális paraméterekkel.

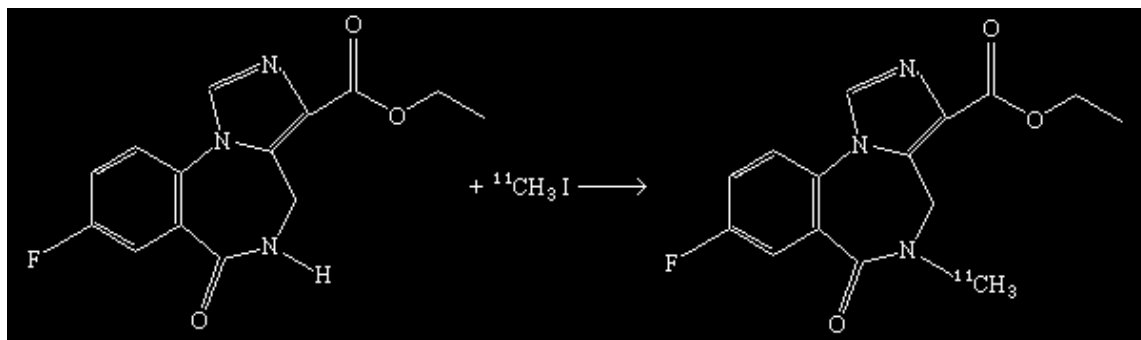
2, A prekursor nagy fajlagos aktivitásban történő gyors, egymásután ismételt szintézisét megvalósító készülék felépítése a fenti, jelen pályázat keretében végzett kísérleteken alapul. A készülék kifejlesztése japán együttműködésben történt. Az eddigi készülékek továbbfejlesztése azért vált szükségessé, mert a receptor sűrűség mérésén alapuló modern PET vizsgálatokhoz szükséges nagy fajlagos aktivitású radiofarmakonokat az alkalmazott ^{11}C radioizotóp rövid felezési ideje miatt rövid idő alatt nagy hozammal kell előállítani. Ez a fajlagos aktivitás növelésének egyik módja.

A másik fő követelmény, mivel az eljárás a $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ lítium-alumínium-hidriddel történő redukcióján alapszik, hogy a légköri CO_2 lehető legnagyobb fokú kizárását kell biztosítani. A készülék lényege egy kis holtterefogatú, fűtőszállal körbevett kapilláris reaktor (egy korrózióálló, $\frac{3}{4}$ mm-es belső átmérőjű, 10 cm hosszú teflon cső), amelyben az összes bemenő anyagforgalmat egy speciális, háromállású, hatportos, és a kis holtterefogat miatt egyedi gyártású szelepen keresztül bonyolítjuk le. A reaktor másik végén egy hasonló szelep van a kilépő anyagforgalom szabályozására, a két szelep összehangoltan számítógép vezérléssel működik. A szelepek működése a jól ismert HPLC szelepekéhez hasonló. A készülékhez tartozik még két tartóedény, amelyekből a reagens oldatokat kétutas szelep nyitása után nagy tisztaságú, abszolút CO_2 mentes He vivőgázzal vezetjük a reaktorba. A berendezés rajza a következő ábrán látható:



A reakciókomponensek beadagolása a reaktorba a következő sorrendben történik: Először THF-ban oldott LiAlH_4 -ot (40 μl , 1 M) vezetünk lassú ütemben a reaktoron keresztül, majd a He vivógázzal a falon adszorbeálódott mennyiséget meg is szárítjuk. Ez időben egybeesik a besugárzás befejezésével, miután a következő lépésben a keletkezett $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ gázt - a szelepek átkapcsolása után - keresztül vezetjük a reaktoron. Mindez szobahőmérsékleten történik, a művelet alatt a $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ -ot a redukáló reagens lítium-alumínium- $[^{11}\text{C}]\text{metilát}$ komplexet képezve a felületén megkötöi. A harmadik lépésben HI oldatot (10 μl , 10 M) vezetünk be, a reaktor két végét lezárjuk, 180 °C-ra melegítjük, és azon tartjuk 4 percig. A keletkezett $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ -ot Ascarit (HI felesleg megkötése) és P_2O_5 (víz és radiometanol megkötés) csapdákon keresztül He vivógázzal vezetjük a metilezést végző reakcióedénybe. A berendezés híg sósavas/vizes/acetonos kimosás, és He gázos szárítás után ismételt szintéziseket tesz lehetővé, a fajlagos aktivitás (~18 Ci/mikromol) romlása nélkül. A folyamat minden lépése távvezérelt, a reagensek bekészítése és a végtermék eltávolításán kívül nem igényel beavatkozást.

3, A flumazenil egy benzodiazepin antagonist, amely reverzibilisen kötődik a benzodiazepin-GABA receptorokhoz. A $[^{11}\text{C}]\text{flumazenil}$ végzett benzodiazepin receptor sűrűség vizsgálata számos pszichiátriai rendellenesség diagnosztizálására alkalmas (epilepszia, ischaemiás stroke vizsgálata, Tourette szindróma, pánikbetegség). Előállítását N-desmetil-flumazenil, (Ro15-5528) N-metilezésével végezzük el.



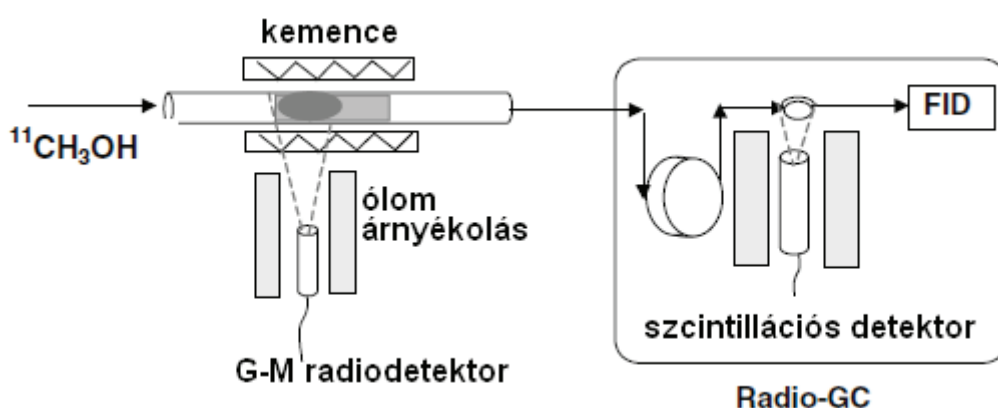
Az ehhez szükséges nagy fajlagos aktivitású $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ prekursor előállítása a fentiek alapján ezen pályázat keretében kifejlesztett módszer alapján történt, a kapilláris reaktor használatával. A metilezés során a kb. 8 ml térfogatú kónuszos reaktoredényben elhelyezett 0,3 mg N-desmetil-flumazenil 0,4 ml-es dimetil-formamidos oldatán, amely a redukáló közeg biztosítása végett 0,5 mg NaH-t is tartalmaz, He vivógázzal nagy fajlagos aktivitású $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ -ot buborékolattunk keresztül -15 °C-on. Az abszorpció (kb. 4 perc) befejezése után a reakcióelegyet 95 °C-ra melegítettük 1 percig, majd preparatív HPLC oszlopra vezettük a termék kinyerésére. A metilező egység része a nagy fajlagos aktivitású $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ -ot előállító - számítógép által vezérelt - automatikus berendezésnek. Az eljárás során nagy figyelmet kell fordítani a rendszer teljes zártságára, és a vegyszerek inert atmoszférában történő kezelésére, hogy a környezetből ne juthasson be CO_2 , ami a fajlagos aktivitást csökkentené.

A reverz fázisú C-18 preparatív oszlopon az acetonitril/6mM/l NaH_2PO_3 (30/70) eluens folyadék sebessége 7 ml/perc volt, ilyen feltételek mellett az N-desmetil-flumazenilt

a végterméktől teljesen el lehetett választani (retenciós idők 7,1 és 9,3 perc). A [^{11}C]flumazenilt tartalmazó frakciót bepároltuk, és 5 ml izotóniás oldatban történő feloldás után 0,22 mikronos Millipore szűrőn sterilizáltuk. A terméket analitikai HPLC-n is azonosítottuk. A szintézis ideje a besugárzás befejezésétől számítva 32 perc volt, a bomláskorrigált hozam 75%, a radiokémiai tisztaság >98%, az elért specifikus aktivitás 12Ci/ mikromol, ami a receptor vizsgálatokhoz megfelelő.

4, A ^{11}C -jelzéstechika alkalmazása a katalizátorokon végbemenő folyamatok vizsgálatában új keletű. Célunk az aromás vegyületek ^{11}C -jelzett metanol deriváltakal történő katalitikus jelzésének kidolgozása volt, amit a hosszabbítással együtt 5 éves project időtartama alatt kívánunk megvalósítani. Korábbi OTKA pályázat keretében végzett kísérleteinkben a ^{11}C jelzett metanol konverzióját vizsgáltuk ZSM-5, Béta zeolit és MCM-41 típusú katalizátorokon. A H-formájú katalizátorokon dehidratációval főleg kis molekulású szénhidrogéneket kapunk, míg Cs-formájú katalizátorokon, egyidejű dehidratáció és dehidrogéneződés következtében, főleg metoxi-metán, dimetiléter és formaldehid keletkezik.

A jelen pályázat keretében a metanol adszorpcióját, deszorpcióját és konverzióját szintén ^{11}C -jelzett metanollal vizsgáltuk Cu-módosított aluminoszilikát (ZSM-5, Beta, MCM-41), Fe-Beta zeolit, Fe-, Ni- és V-módosított MCM-41 mezopórusos szilikát katalizátorokon. A következő ábrán látható berendezést használtuk a katalizátoros kísérleteinkhez és a termékek analíziséhez:



A Cu-módosított aluminoszilikát katalizátorokat Na-formájú zeolitokból állítottuk elő ioncserével, és szerkezetüket röntgen-diffraktométerrel határoztuk meg. A Cu-katalizátorok előállítása és szerkezetének vizsgálata finn együttműködésben történt. A radiometanolt mini reaktorban elhelyezett katalizátoron adszorbeáltattuk, majd a reaktort különböző hőmérsékletre fűtöttük fel. A katalitikus reakciók konverziós termékeit radiogázkromatográffal (FID detektoros gázkromatográf on-line összekapcsolva radiodetektorral) analizáltuk és azonosítottuk. 240 °C-os konverziós hőmérsékleten a katalizátorok savas helyein dimetiléter és szénhidrogének, míg a katalizátorok redox helyein metoxi-metanol, dimetoxi-metán és formaldehid keletkezik, ami alátámasztotta előzetes feltételezésünket a Cu-formájú zeolitok kettős karakteréről. Magasabb, 400 °C hőmérsékleten a CO és CO₂ végtermékek domináltak.

H- és Fe-Beta formájú zeolit katalizátoron is vizsgáltuk a metanol konverzióját jelzett metanollal. Három, különböző Si/Al arányú (25, 75 és 300) H- és Fe-Beta zeolit mintákat finn együttműködő partner biztosította. A H-Beta zeolitokon 250 °C-on dehidratációs termékek, azaz dimetiléter és szénhidrogének (C₁-C₅) keletkeztek. Si/Al arány növekedésével a szénhidrogének hozama csökken, így a dimetiléter válik dominánssá. A Fe-Beta zeolitokon a dehidratáció mellett a dehidrogénezés folyamata is végbement a zeolit kettős, sav-bázis és redox tulajdonsága miatt. A Fe-Beta esetében a fő termék a dimetiléter, de magasabb hőmérsékleten (350 °C-on) a formaldehid mennyisége is jelentőssé válik a szénhidrogének mellett.

Jelzett metanol és metiljodid kölcsönhatását is vizsgáltuk H- és Fe-Beta zeolit katalizátoron. A radio-GC analízis igazolta, hogy a katalizátor felületén a radioaktív és az inaktív metil csoportok cseréje játszódik le, aminek révén ¹¹C-jelzett metiljodid keletkezik. A metil csoportok cseréjét csak az általunk használt radioaktív nyomjelzéses módszerrel és radiodetektorral ellátott gázkromatográfiás analízissel lehet igazolni.

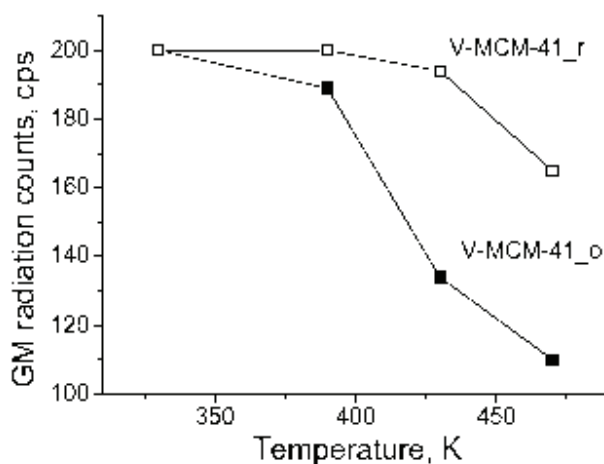
A metanol, mint arra alkalmas kisméretű, poláros molekula segítségével Fe-módosított MCM-41 mezopórusos szilikát katalizátor felületi és katalitikus tulajdonságait is tanulmányoztuk. A Fe-MCM-41 katalizátor mintát bolgár együttműködő partner biztosította. A katalizátor reaktív felületének meghatározása radioaktív ¹¹C-jelzett metanollal történt radiodetektorok alkalmazásával. A ¹¹C-jelzett metanol adszorpciójának és deszorpciójának mértéke különböző hőmérsékleten (25–200°C) információt adott a gyenge és erős kötésekről a katalizátor felületen. Ennek pontos mérésére egy automatikus, radioaktív metanol gázt injektáló berendezést fejlesztettünk ki. A módszer jól kiegészíti a klasszikus FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) analízist.

Magasabb hőmérsékleten (200-400°C) a metanol már átalakul, és a metanol konverziós termékei (dimetiléter, formaldehid, metán, szénmonoxid és széndioxid) utalnak a Fe-MCM-41 katalizátoron történő dehidratációs, dehidrogénezés és redoxi folyamatokra. A metanol deszorpciójának mértéke, konverziójának hozama, valamint a metanol deriváltak szelektivitása módosult, ha a Fe-MCM-41 katalizátort a kísérlet előtt redukáltuk hidrogénnel. Ezek az eredmények megerősítették a metanol elméletileg feltételezett reakció mechanizmusát a Fe-módosított MCM-41-en.

Ni-módosított MCM-41 mezopórusos szilikát katalitikus tulajdonságának tanulmányozásához az átmeneti fém két különféle módszerrel volt beépítve a különféle típusú MCM-41 hordozó katalizátorba: ioncserével (TIE, azaz Template Ion-Exchange, H-MCM-41 alumino-szilikáton Si/Al=20)) és impregnálással (IMP, azaz Impregnált MCM-41 szilikáton). A mintákat a finn és a bolgár együttműködő partnerek biztosították. A kétféle Ni-MCM-41 katalizátor más-más fiziko-kémiai karakterrel bír, ezáltal a metanol adszorpció-deszorpció tulajdonsága, valamint a metanol konverzió szelektivitása és hozama is eltérő. Az eddig alkalmazott módszerünket (gázkromatográf FID detektorral és összekapcsolva on-line radiodetektorral) továbbfejlesztettük, hogy információt nyerjünk a gyenge és erős kötések számáról és mértékéről a katalizátor felületén. A radio-jelzett és a természetes metanol egymást követő adszorpciója után a deszorpció vizsgálata a hőmérséklet függvényében, valamint a radio-GC analízis bizonyította a metanol erősebb kémiai kötését Ni-MCM-41(TIE)-alumino-szilikáton 160 °C-ig, főleg a katalizátorok oxidált formájában. A metanol konverzió hozamok és szelektivitások összehasonlítása alapján mindkét katalizátoron a fő termék (oxidált és redukált katalizátorokon eltérő mértékben) a metán, szénmonoxid és a széndioxid, valamint a formaldehid volt. A

dimetiléter csak a Ni-MCM-41(TIE) katalizátoron keletkezett, jelezvén annak savasabb karakterét. Az átalakulás hozama magasabb volt az impregnált módszerrel előállított Ni-MCM-41 szilikáton.

Ugyancsak vizsgálatokat végeztünk V-MCM-41 katalizátoron is, amit szilárd fázisú redukciós eljárással V_2O_5 -on keresztül állítottuk elő bolgár együttműködésben. A V-módosított MCM-41 mezopórusos szilikát katalizátor karakterizálását XRD, N_2 adszorpció, FTIR és UV-Vis spektroszkópiával végeztük el. A kísérleteket két különböző, oxidáló (o) és redukáló (r) atmoszférában kezelt V-MCM-41 katalizátoron végeztük ^{11}C -jelzett metanollal. Új technikát vezettünk be, ahol a ^{11}C - és ^{12}C -metanol egymást követő adszorpcióját alkalmaztuk a különböző körülmények között kezelt katalizátorok hatásának tisztázására a metanol konverzióban. A termékek analízisére a fenti FID és radiodetektor összeállítást használtuk. A következő ábra a ^{11}C -metanol deszorpciójának hőmérséklet függését mutatja:



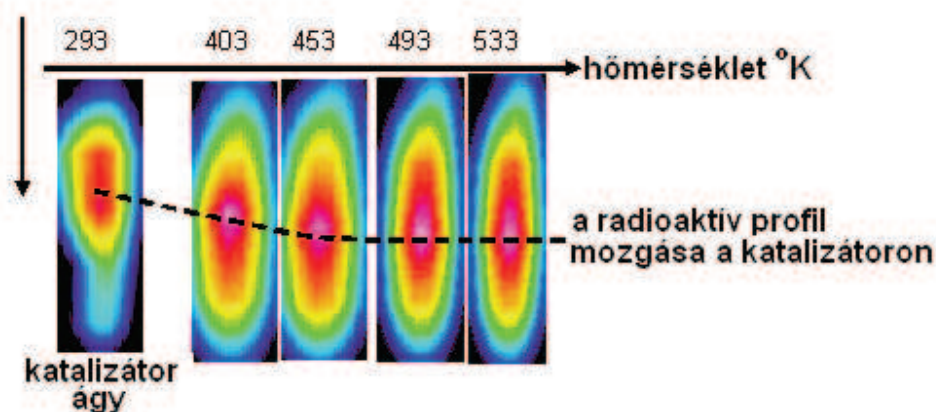
A redukáló atmoszférában kezelt katalizátoron való nagymértékű kötődés a felületen kialakult V^{4+} ionok erős adszorpciókés képességével magyarázható. Ugyancsak különbség van a kétfajta módon kezelt katalizátor viselkedésében a ^{11}C -metanol reakciótermékeire vonatkoztatva. V-MCM-41_o katalizátoron alacsonyabb hőmérsékleten (250-280 °C) kevés dimetilétert (DME) regisztráltunk. 280-360 °C hőmérséklet tartományban a CH_4 , CO , CO_2 , $HCHO$ és metilal képződés erősen növekedett, míg V-MCM-41_r katalizátoron a DME nem volt kimutatható, és csak elhanyagolható mennyiségű metilal képződött.

A ^{11}C -metanol deszorpciójának és konverziós termékeinek mérése által kapott eredmények megmutatták, hogy a különbözőképpen előkezelt katalizátorokon különböző redox és savas tulajdonságú katalitikusan aktív helyek alakulnak ki. Amíg a metanol deszorpció és elbomlás (CH_4 , CO , $HCHO$, CO_2) tipikus a redox helyek jelenlétében, addig a DME és metilal képződés csak savas aktív helyek közreműködésével lehetséges. Így a V-MCM-41_o katalizátor esetében alacsony savas tulajdonsággal (Lewis sav típusal) rendelkező aktív helyeket tételezünk fel. Ezek az alacsony vegyértékű vanádium-oxid formák jelenlétének tulajdoníthatóak. Ezek mennyisége azonban jelentősen csökken a katalizátor hidrogénes kezelése következtében. Így az előkezeléssel hathatósan szabályozható a V-MCM-41 katalitikus viselkedése.

A ^{11}C -radioizotóppal jelzett gázok szilárd katalizátoron végbemenő adszorpciójának tanulmányozására használt legújabb eljárások egyike a pozitron tomográfia. A radioaktív reagens adszorpciójának tanulmányozása az idő és a hőmérséklet függvényében. Ez a módszer kiegészítő információkat ad a katalitikus aktív helyek számáról és azok térbeli eloszlásáról. A mini PET technikát erre a célra még nem alkalmazták.

A mini PET kamerát az ATOMKI-ben fejlesztették ki teljes gyűrű rendszerrel (12 egyedi detektor modullal, 206 mm átmérővel), térbeli felbontással és megnövelt látószöggel. A mini PET alkalmazhatóságának vizsgálatához $\text{Cu}/\text{ZnO}/\text{Al}_2\text{O}_3$ katalizátort használtunk. Az előzetes teszt kísérletekben meghatároztuk az üvegcsőbe helyezett katalizátor ágy optimális méretét, ami 2 cm átmérőjű és 4 cm hosszú volt.

A $^{11}\text{CO}_2$ adszorpciójának és a katalizátor ágyon való eloszlásának tanulmányozását a hőmérséklet függvényében végeztük, a mini PET-tel készült sorozat felvételek a következő ábrán láthatóak:



A pirostól kékig terjedő színek mutatják a legmagasabbtól a legalacsonyabbig terjedő radioaktív helyeket a katalizátoron a radioaktív molekulák helyének és sűrűségének megfelelően. A mini PET képalkotás információt nyújt a katalizátor kapacitására és a katalizátor ágyon belüli 3D eloszlásra az adott reagensre vonatkozóan. A kísérleteket statikus és áramló rendszerekben végeztük (az utóbbi esetben He vivőgázt alkalmazva). Statikus rendszerben, ahol a katalizátor ágy zárt, csak az adszorpció profil kiterjedését észleljük, míg áramló rendszerben a radioaktív anyagok profilja a vivőgázzal és a hőmérséklet növelésével előre halad.

Az előkísérletek, és azok eredményei igazolták, hogy a mini PET képalkotó módszer a heterogén katalízis vizsgálata során kiválóan alkalmas a katalitikus aktív helyek feltérképezésében. Az ígéretes eredmények alapján tervezzük a mini PET vizsgálatok kiterjesztését más katalizátorokra, valamint a kapott eredmények kvantitatív feldolgozását is.