



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

PET-radiolääkkeiden molaarisen aktiivisuuden määrittäminen

Kemia

LuK-tutkielma, Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä

Laajuus: 6 op

Laatija(t):

Emma Rajala

29.3.2025

Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu

Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

Pääaine: Kemia, Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä

Tekijä(t): Emma Rajala

Otsikko: PET-radiolääkkeiden molaarisen aktiivisuuden määrittäminen

Ohjaaja(t): Proviisori Petter Lövdahl ja apulaisprofessori Xiang-Guo Li

Sivumäärä: 19 sivua

Päivämäärä: 29.3.2025

Radiolääke on tavallisimmin radioaktiivisesta isotoopista ja biologisesti mielenkiintoisesta molekyylistä koostuva yhdistelmä, joka kulkeutuu elävässä organismissa tiettyihin kudoksiin, elimiin tai soluihin, kuten syöpäkasvaimiin. Radiolääkkeitä käytetään diagnostiikassa radioaktiivisina merkkiaineina, sekä terapeuttisissa tarkoituksissa lääkkeinä. Positroniemissiotomografia (PET) on diagnostinen kuvantamismenetelmä, jonka avulla saadaan muodostettua kuva PET-merkkiaineen lähettämän radioaktiivisen säteilyn jakautumisesta kehossa tai tiettyssä kehon osassa, ja jonka avulla voidaan tutkia esimerkiksi syöpäkasvaimia.

Molaarinen aktiivisuus (A_m) on oleellinen parametri, joka tulee ottaa huomioon PET-radiolääkkeitä valmistettaessa. Syntetisoidun PET-radiolääkkeen molaarinen aktiivisuus määritetään hyödyntäen radiolääkkeen kaupallista ei-aktiivista referenssiä sekä korkean erotuskyvyn nestekromatografiaa (radioHPLC), johon on yhdistetty UV- ja radiodetektorit.

Erityisesti kliiniseen käyttöön valmistettavien PET-radiolääkkeiden osalta on tärkeää varmistaa keskeisten laatuparametrien täyttyminen. Molaarisen aktiivisuuden määrittäminen on oleellista sekä radiolääkkeen turvallisuuden, mutta myös laadukkaiden PET-kuvien kannalta. Esimerkiksi reseptorikuvantamisessa vain pieni osa tutkittavan kohteen, kuten syöpäkasvaimen sitoutumispaikoista on PET-merkkiaineen käytössä. Radiolääkkeen sisältävät aktiiviset ja ei-aktiiviset molekyylit kilpailevat näistä sitoutumispaikoista. Optimaalinen A_m takaa sen, että mahdollisimman paljon aktiivisia molekyylejä pääsee sitoutumaan kohteeseen, ja samalla saavutetaan riittävä signaali laadukkaiden PET-kuvien tuottamiseksi ja varmistetaan radiolääkkeen turvallisuus.

Avainsanat: HPLC, merkkiaine, molaarinen aktiivisuus, PET, radiolääke

Sisällysluettelo

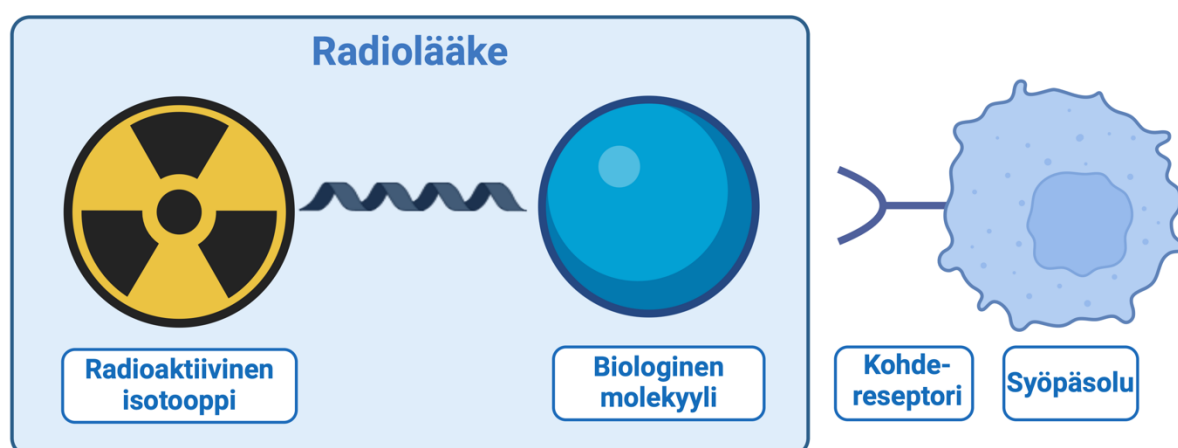
Lyhenneluettelo	4
1 Johdanto	5
1.1 Molaarinen aktiivisuus	6
1.2 Tutkielman tavoitteet ja toteutus	8
2 Molaarisen aktiivisuuden määrittäminen	8
2.1 Radiolääkkeiden laadunvalvonta	8
2.2 Radio-HPLC-analyysi molaarisen aktiivisuuden määrittämiseksi	10
2.2.1 Kalibraatiosuora	10
2.2.2 Molaarisen aktiivisuuden laskeminen.....	11
2.3 Teoreettinen molaarinen aktiivisuus	12
2.4 Tekijät, jotka vaikuttavat molaarisen aktiivisuuden arvoon	13
3 Mittaustulosten hyödyntäminen	13
3.1 PET-kuvantaminen	14
3.2 Optimaalinen molaarinen aktiivisuus	15
3.3 Al[¹⁸F]F-PSMA-11	16
4 Johtopäätökset	17
Viitteet	18

Lyhenneluettelo

Am	Eng. <i>Molar activity</i> , molaarinen aktiivisuus
HPLC	Eng. <i>High Performance Liquid Chromatography</i> , korkean erotuskyvyn nestekromatografia
EOB	Eng. <i>End of Bombardment</i> , pommituksen loppu
EOS	Eng. <i>End of Synthesis</i> , synteesin loppu
PET	Eng. <i>Positron emission tomography</i> , positroniemissiotomografia
QC	Eng. <i>Quality Control</i> , laadunvalvonta
ROI	Eng. <i>Region of interest</i> , kiinnostuksen kohteena oleva alue
RT	Eng. <i>Retention time</i> , retentioaika
TLC	Eng. <i>Thin-layer chromatography</i> , ohutkerroskromatografia
TOI	Eng. <i>Time of Injection</i> , injektiohetki

1 Johdanto

Radiofarmaseuttiset lääkeaineet ovat tavallisimmin radioaktiivisesta isotoopista ja biologisesti mielenkiintoisesta molekyylistä koostuva yhdistelmä (Sarja, 2019). Tämä yhdistelmä kulkeutuu elävässä organismissa tiettyihin elimiin, kudoksiin tai soluihin, kuten esimerkiksi syöpäsoluihin (Kuva 1). Ydinlääketieteessä käytettävät radiofarmaseuttiset lääkeaineet jakautuvat nykyisin kahteen pääryhmään. Nämä ovat diagnostisessa kuvantamisessa käytettävät lääkeaineet, joita kutsutaan radiomerkkiaineiksi, sekä terapeuttisiin tarkoituksiin käytettävät lääkeaineet. Radiofarmaseuttiset lääkeaineet ja siten radiomerkkiaineet määritellään radioaktiivisiksi lääkkeiksi eli yksinkertaisemmin sanottuna radiolääkkeiksi. Radiomerkkiaineet kuitenkin eroavat tavanomaisista lääkkeistä ja terapeuttisista radiofarmaseuttisista lääkkeistä siinä, että niillä ei ole farmakologisia vaikutuksia (Sarja, 2019). Tässä tutkielmassa tarkastellaan erityisesti PET-radiomerkkiaineita, jotka luetaan diagnostisessa kuvantamisessa käytettäväksi radiolääkkeiksi.



Kuva 1. Radiolääke koostuu tavallisimmin radioaktiivisesta isotoopista ja biologisesti mielenkiintoisesta molekyylistä, jotka kiinnittyvät toisiinsa linkkerin avulla. Tämä yhdistelmä kulkeutuu elävässä organismissa tutkittavaan kohteeseen, esimerkiksi syöpäsoluihin. Luotu BioRender.com

Radiomerkkiaine tarkoittaa käytännössä mitä tahansa radioaktiivisesti leimattua molekyyliä, joka muistuttaa tai jäljittää kehossa luonnostaan esiintyvän molekyylin in vivo -käyttäytymistä, ja jota voidaan käyttää antamaan tietoa tietystä biologisesta prosessista (Lee, 2010). Säteilevällä isotoopilla leimattu merkkiaine voi olla elimistössä fysiologisesti esiintyvä molekyyli, kuten glukoosimerkkiaine 2-deoksi-2- ^{18}F fluori-D-glukoosi eli ^{18}F -FDG, tai aineenvaihdunnan patologiseen kertymätuotteeseen sitoutuva valmiste, kuten amyloidimerkkiaine PIB (Tuokkola & Knuuti, 2018). Radioaktiivisesti leimattu merkkiaine voi myös olla tiettyyn reseptoriin

kiinnittyvä molekyyli, esimerkiksi eturauhassyövän merkkiaine PSMA (Tuokkola & Knuuti, 2018), jota tarkastellaan myöhemmin tutkielman luvussa 3.3.

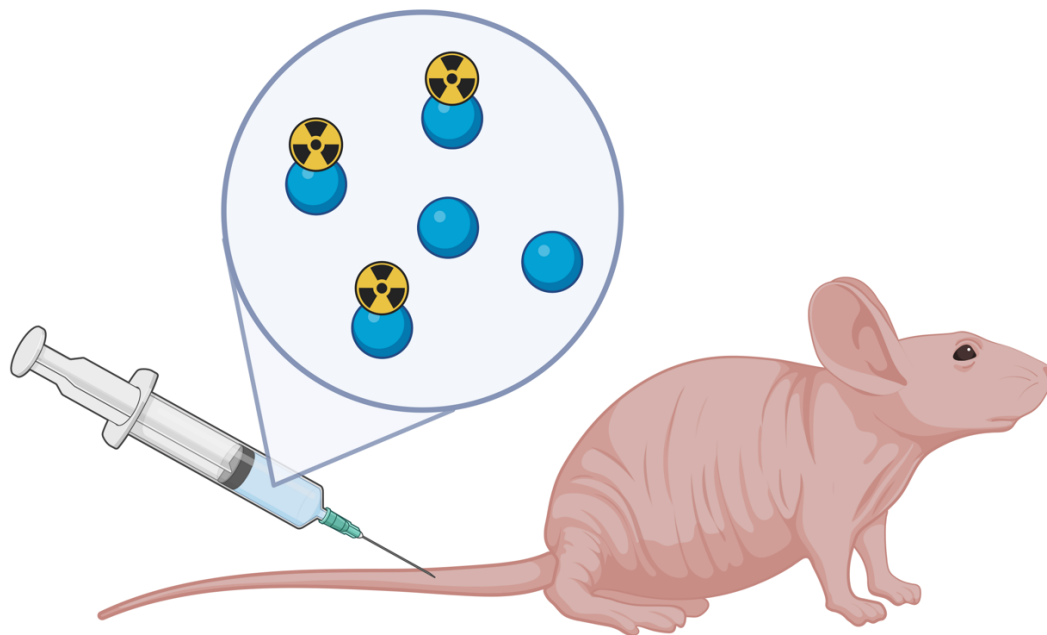
Radiomerkkiaineissa olevaa radioaktiivista leimaa käytetään, kuten todettu, diagnostisesti sähkömagneettisen säteilyn, kuten gamma- tai röntgensäteilyn lähettäjänä. Säteilyn havaitseminen mahdollistaa merkkiaineen pitoisuuden kvantifioinnin (Vermeulen et al., 2019). Radiomerkkiaineessa olevan radioisotoopin in vivo -jakauma koko kehossa tai tietyissä kehon osissa voidaan määrittää positroniemissiotomografialla eli niin kutsutussa PET-kuvauksessa. PET-kuvauksessa käytettäviä radiolääkkeitä kutsutaan yleisesti PET-merkkiaineiksi. PET-merkkiaineena laajimmin käytössä on aiemmin mainittu glukoosin aineenvaihduntaa kuvastava fluorideoksiglukoosi [^{18}F]-FDG (Janatuinen & Kempainen, 2020).

Erityisesti kliiniseen käyttöön valmistettavien PET-radiolääkkeiden osalta on tärkeää varmistaa keskeisten laatuparametrien täytyminen. Tämä takaa PET-radiolääkkeiden turvallisen valmistuksen, käytön sekä sen että niiden avulla saadut PET-kuvat ovat riittävän laadukkaita diagnostisiin tarkoituksiin.

1.1 Molaarinen aktiivisuus

Radiomerkkiaineiden synteessin aikana aiheutuu väistämättä kontaminaatiota, joka on seurausta esimerkiksi liuottimissa ja järjestelmässä olevista epäpuhtauksista. Radiosynteessin tapauksessa nämä epäpuhtaudet tarkoittavat käytettävän alkuaineen stabiileja eli ei-aktiivisia isotooppeja. Esimerkiksi fluori-18-synteessin tapauksessa radiofluorausreaktion aikana prekursorimolekyylit eli biologisten molekyylien muoto, joka pystyy sitomaan radioaktiivisen isotoopin, leimataan. Leimaus tapahtuu joko radioaktiivisella fluori-18:lla tai ei-radioaktiivisella fluori-19:llä, jotka ovat molemmat läsnä reaktioseoksessa (Sergeev et al., 2018). Syntyviä tuotteita ei kuitenkaan voida erottaa kemiallisesti toisistaan (Sergeev et al., 2018). Hiili-11-synteessin tapauksessa kontaminaatio voi olla seurasta esimerkiksi stabiileja hiiltä sisältävien kaasujen läsnäolosta syklotronissa tai ilmakehän aiheuttamasta kontaminaatiosta missä tahansa kohtaa järjestelmää.

Sekä fluori-18-, että hiili-11-synteessien tapauksessa kontaminaatio johtaa siihen, että synteessin lopputuotteena muodostuva radiolääke sisältää sekä leimattua eli radioaktiivista merkkiainetta että leimaamatonta eli ei-radioaktiivista merkkiainetta. Tätä osoittaa kuva 2. Näistä radiolääkkeen sisältämistä merkkiaineista vain ensimmäisenä mainitut eli radioaktiiviset ovat kuitenkin havaittavissa PET-kameran avulla.



Kuva 2. Radiolääke sisältää sekä radioaktiivista eli leimattua merkkiainetta, että ei-radioaktiivista eli leimaamatonta merkkiainetta. Luotu BioRender.com

Yksi tärkeimmistä parametreista, joka tulee ottaa huomioon PET-merkkiaineiden synteesin aikana sekä laadunvalvonnassa on molaarinen aktiivisuus (A_m). Molaarinen aktiivisuus määritellään radioaktiivisuudeksi yhdisteen ainemäärää eli radioaktiivisten ja ei-radioaktiivisten merkkiainemolekyylien kokonaismäärää kohden (Luurtsema et al., 2021). Molaarisen aktiivisuuden kaava on esitetty yhtälössä 1. Molaarisen aktiivisuuden SI-yksikkö on Bq/mol (Sergeev et al., 2018), mutta PET-kuvauksessa käytettävien merkkiaineiden molaarinen aktiivisuus ilmaistaan tyypillisesti GBq/ μ mol:na (Coenen et al., 2018) tai TBq/ μ mol:na.

Molaarinen aktiivisuus ei ole vakioarvo, vaan se muuttuu ajan myötä. Koska molaarinen aktiivisuus lasketaan yhdisteen radioaktiivisuudesta, joka pienenee ajan myötä radionuklidin puoliintumisajan mukaan, on tarpeen viitata ajankohtaan, jolloin molaarinen aktiivisuus lasketaan (Keller, 2019). Useimmiten kyseessä on reaktion keskeinen piste, kuten pommituksen loppu (EOB), synteesin loppu (EOS), tai kliinisessä ja prekliinisessä työssä injektioajankohta (TOI) (Keller, 2019).

$$A_m = \frac{\text{Aktiivisuus}_{A^*}(\text{GBq})}{n_A(\mu\text{mol}) + n_{A^*}(\mu\text{mol})} \simeq \frac{\text{Aktiivisuus}_{A^*}(\text{GBq})}{n_A(\mu\text{mol})} \quad (1)$$

Yhtälö 1. Molaarisen aktiivisuuden yhtälö, jossa Aktiivisuus A^* kuvaa radiolääkkeen radioaktiivisuuden mitta, n_A on isotooppisesti stabiilin yhdisteen määrä, kun taas n_{A^*} on radioaktiivisen yhdisteen määrä (Luurtsema et al., 2021)

1.2 Tutkielman tavoitteet ja toteutus

Tämän tutkielman tavoitteena on käsitellä PET-radiolääkkeiden molaarisen aktiivisuuden määrittämisen merkitystä. Yksi näkökulma on molaarisen aktiivisuuden määrittäminen osana radiolääkkeiden laadunvalvontaa. Lisäksi tutkielmassa käsitellään molaarisen aktiivisuuden määrittämis menetelmää, korkean erotuskyvyn nestekromatografiaa. Lopuksi tarkastellaan molaarisen aktiivisuuden vaikutusta erityisesti PET-kuvantamiseen, sen laatuun sekä radiolääkkeiden turvallisuuteen.

Tutkielman kokoamiseen käytettyjä julkaisuja on haettu Reaxys Academic Edition ja Web of Science -tietokannoista. Hakusanoina on käytetty muun muassa ”molar activity”, ”specific activity”, ”radiopharmaceutical”, ”HPLC” ja ”PET”. Tutkielman kokoamisessa on myös hyödynnetty UtuPub -palveluun julkaistuja väitöskirjoja.

2 Molaarisen aktiivisuuden määrittäminen

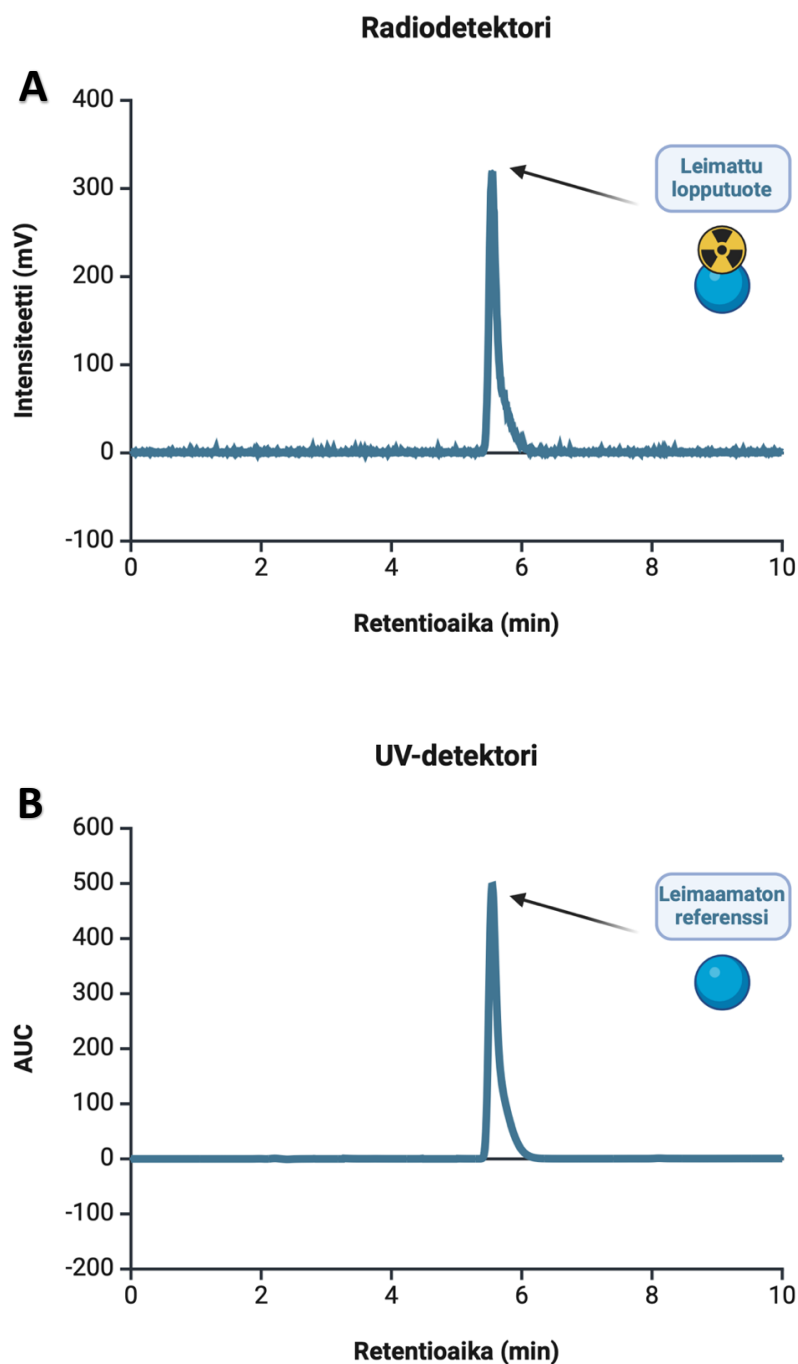
Molaarisen aktiivisuuden määrittäminen on osa radiolääkkeiden valmistus- ja käyttöönottoprosessia. Tässä luvussa käsitellään radiolääkkeiden laadunvarmistusta sekä käydään läpi radio-HPLC-menetelmä molaarisen aktiivisuuden määrittämiseksi. Lisäksi luvussa käsitellään molaarisen aktiivisuuden teoreettisia arvoja, sekä tekijöitä, jotka vaikuttavat sekä määrittämisprosessiin, että tuloksiin.

2.1 Radiolääkkeiden laadunvalvonta

Laadunvalvonta (QC) on tärkeä kriteeri PET-radiolääkkeiden tuotannossa ja molaarisen aktiivisuuden määrittäminen on vastaavasti oleellinen osa tätä laadunvalvontaa. Molaarisen aktiivisuuden määrittäminen alkaa oikeastaan jo laadunvalvonnan alussa tunnistamalla syntetisoitu radiolääke. Tämä suoritetaan vertailemalla tutkittavaa, usein itse syntetisoitua radioaktiivista lopputuotetta sekä referenssinä käytettävää kaupallista ei-aktiivista yhdistettä toisiinsa. Referenssiyhdiste voi olla myös itse syntetisoitu (Lahdenpohja, 2021). Vertailu suoritetaan käyttämällä korkean erotuskyvyn nestekromatografiaa eli HPLC:tä. Usein käytössä on nimenomaan käänteisnestefaasi-HPLC. Käytettävään HPLC-laitteistoon kuuluu sekä UV-detektori ja sitä seuraava radiodetektori eli säteilyilmaisimien ei-aktiivisen ja aktiivisen yhdisteen havaitsemiseksi. Tällöin laitteistosta käytetään nimitystä radio-HPLC.

Laadunvalvonnassa aktiivinen radiolääke tunnistetaan HPLC:n radiodetektorilla ilmenevän piikin retentioajan (RT) perusteella (Kuva 3A). Tätä retentioaika verrataan kaupallisen referenssin antamaan retentioaikaan, joka voidaan vastaavasti lukea UV-detektorin

antamasta kromatogrammista (Kuva 3B) (Lövdahl et al., 2024). Retentioaikojen määrittäminen on tärkeä kriteeri lopputuotteen laadunvalvonnassa, sillä UV-detektorilla havaittavalla ei-aktiivisella yhdisteellä ja radiodetektorilla havaittavalla aktiivisella yhdisteellä tulee olla sama retentioaika (Lövdahl et al., 2024). Tällöin voidaan varmistua siitä, että syntetisoitu tuote on oikea.



Kuva 3. Syntetisoidun radiolääkkeen laadunvalvonta suoritetaan vertailemalla radiodetektorilla ilmenevää retentioaikaa (A) ei-aktiivisen referenssiyhdisteen UV-detektorilla ilmenevään retentioaikaan (B). Muokattu artikkelista Lövdahl et al., 2024, luotu BioRender.com

Lisäksi laadunvalvontaan kuuluu, että synteesin lopputuotteesta määritetään sekä kemiallinen että radiokemiallinen puhtaus (Lövdahl et al., 2024). Kemiallinen puhtaus on mahdollista määrittää käyttäen joko HPLC:tä tai ohutkerroskromatografiaa eli TLC:tä. HPLC:n etu on kuitenkin tähän tekniikkaan verrattuna suurempi erotuskyky ja lisäksi se, että HPLC-laitteistossa voidaan käyttää useita erilaisia detektoreita yhtä aikaa (Vermeulen et al., 2019). Tämä mahdollistaa kemiallisen ja radiokemiallisen puhtauden määrittämisen samanaikaisesti. Kemiallinen puhtaus voidaan määrittää UV-detektorin kromatogrammissa esiintyvien piikkien määrästä, ja radiokemiallinen puhtaus vastaavasti radiodetektorilta. Korkealaatuisten radiomerkkiaineiden tuotannossa on esimerkiksi usein pakollista saavuttaa yli 95 % radiokemiallinen puhtaus (Luurtsema et al., 2021).

2.2 Radio-HPLC-analyysi molaarisen aktiivisuuden määrittämiseksi

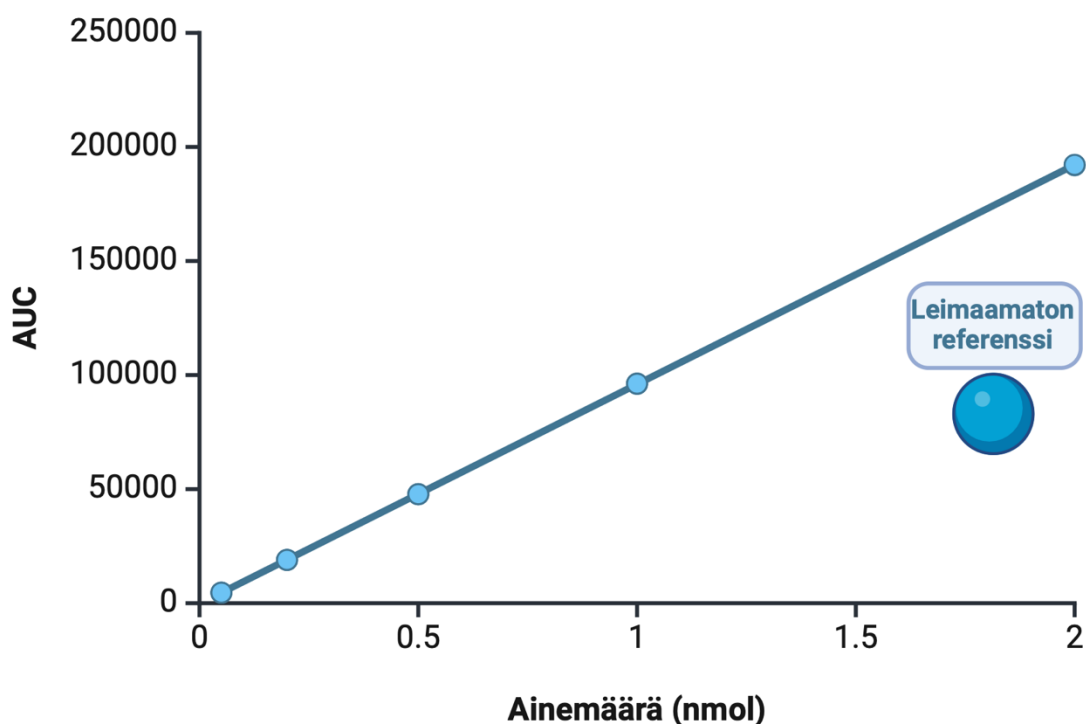
Radio-HPLC on yksi menetelmä radiolääkkeen sisältämien yhdisteiden erottamiseksi. Molaarisen aktiivisuuden määrittämisessä hyödynnetään validoitua radio-HPLC-menetelmää, jossa otetaan huomioon näytteen UV-absorptio-ominaisuudet, liikkuva faasi, kolonnin lämpötila, kolonnin paine ja injektioilavuus (Luurtsema et al., 2021).

2.2.1 Kalibraatiosuora

Molaarista aktiivisuutta määrittäessä voidaan olettaa, että radioaktiivisen yhdisteen määrä on sinänsä merkityksetön verrattuna vastaavan isotooppisesta stabiilin yhdisteen kokonaisainemäärään (Luurtsema et al., 2021). Tällöin yhtälön 1 mukaan koko yhdisteen ainemääräksi voidaan asettaa isotooppisesti stabiilin yhdisteen määrä. Kun halutaan määrittää radiolääkkeen molaarisen aktiivisuus, tulee ensin ainemäärää lopputuotepullossa (Lövdahl et al., 2024). Tätä varten luodaan kalibraatiosuora käyttämällä kaupallista ei-aktiivista referenssiä. Esimerkiksi [¹⁸F]FNA-*N*-CooP -radiomerkkiaineen molaarisen aktiivisuuden määrittämiseksi hyödynnetään kaupallista FNA-*N*-CooP -referenssiä. Kalibraatiosuora on lisäksi laadittava sopivalle alueelle, jotta voidaan mitata vaadittava määrä yhdistettä (Luurtsema et al., 2021).

Radio-HPLC-analyysiä varten kaupallisesta ei-aktiivisesta referenssistä valmistetaan kantaliuos. Kantaliuoksesta valmistetaan edelleen vähintään viisi laimennosta (Luurtsema et al., 2021), joista tunnetaan ainemäärät sekä usein myös niitä vastaavat injektioilavuudet. Näytteet eri ainemäärillä analysoidaan siten radio-HPLC:llä. Mittaukset suoritetaan kustakin näytteestä kolme kertaa ($n=3$) käyttäen samaa laitteistoa, kolonia ja ohjelmaa, kuin aiemmin luvun 2.1 lopputuotteen laadunvalvonnassa (Lövdahl et al., 2024).

Kunkin ainemäärän UV-kromatogrammissa esiintyvä piikki tunnustetaan laadunvalvonnassa saadun retentioajan perusteella. Tämän jälkeen kunkin ainemäärään tunnistetut piikit ($n=3$) integroidaan. Saadut pinta-alan arvot (AUC) ja kunkin näytteen molaariset ainemäärät (nmol) sijoitetaan esimerkiksi Microsoft Exceliin (Lövdahl et al., 2024). Kalibraatiosuora muodostetaan lineaarisella regressiolla niin, että piikkien pinta-alat ovat injektoidun määrän funktiona. Esimerkki kalibraatiosuorasta on esitetty kuvassa 4. Lineaarinen regressioanalyysi edellyttää korkeaa R^2 -arvoa menetelmän lineaarisuuden osoittamiseksi (Luurtsema et al., 2021). Luurtsema et al., 2021 suosittelevat R^2 -arvo $> 0,95$.



Kuva 4. Esimerkki referenssinäytteestä muodostetusta kalibraatiosuorasta, jossa AUC-arvojen ja vastaavien ainemäärien n (nmol) lineaarinen regressio. Luotu BioRender.com

2.2.2 Molaarisen aktiivisuuden laskeminen

Kun kalibraatiosuora on muodostettu, voidaan sitä käyttää useamman lopputuotteen molaarisen aktiivisuuden laskemiseen. Tunnettu tilavuus V_1 , joka on usein HPLC:n maksimi injektio-tilavuus, syntetisoitua lopputuotetta asetetaan HPLC:hen. Lopputuote analysoidaan samalla menetelmällä, kuin aiemmin laadunvalvonnassa. Radiodetektorilla esiintyvä piikki, joka vastaa retentioajaltaan UV-detektorilla esiintyvää referenssiyhdistettä integroidaan ja siten saadaan sitä vastaava AUC-arvo. Tämän jälkeen käytetään kalibraatiosuoran yhtälöä kyseisen näytteen ainemäärän määrittämiseen. Integroimalla saatu AUC-arvo sijoitetaan kalibraatiosuoran yhtälöön ja ratkaisuna saadaan ainemäärä n_1 . Tämä ainemäärä vastaa

yhdisteen määrää tunnetussa injektio-tilavuudessa V_1 . Koska lopputuotepullon tilavuus V_2 on tunnettu, voidaan ratkaista yhdisteen määrä n_2 lopputuotepullossa yhtälöllä 2.

$$\frac{n_1}{V_1} = \frac{n_2}{V_2}$$

Yhtälö 2. Molaarisen aktiivisuuden määrittämiseksi tulee selvittää yhdisteen määrä n_2 lopputuotepullossa V_2 . Yhtälössä n_1 on yhdisteen määrä tunnetussa injektio-tilavuudessa V_1 .

Saatu ainemäärää voidaan käyttää molaarisen aktiivisuuden laskemiseen. Lopputuotepullon aktiivisuus voidaan mitata esimerkiksi annoskalibraattorilla tietyssä luvussa 1.1 esitettyssä ajankohdassa, kuten synteessin lopussa. Siten molaarinen aktiivisuus voidaan laskea luvussa 1.1 esitetyn yhtälön 1 mukaisesti.

2.3 Teoreettinen molaarinen aktiivisuus

Korkein teoreettinen molaarinen aktiivisuus on tilanne, jossa kaikki molekyylit ovat radioleimattuja. PET-radioisotooppien, kuten ^{15}O , ^{11}C , ^{68}Ga ja ^{18}F teoreettinen molaarinen aktiivisuus suoraan yhteydessä ja käänteisesti verrannollinen radioisotooppien puoliintumisaikaan (Luurtsema et al., 2021). Radioisotoopin teoreettinen molaarinen aktiivisuus voidaan siten määrittää yhtälöllä 3, jossa $t_{1/2}$ on isotoopin puoliintumisaika (s) ja N_A on Avogadron vakio (Keller, 2019).

$$A_m(\max) = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} N_A$$

Yhtälö 3. Teoreettisen molaarisen aktiivisuuden $A_m(\max)$ laskukaava, jossa $t_{1/2}$ on isotoopin puoliintumisaika (s) ja N_A on Avogadron vakio

PET-isotooppien teoreettiset molaariset aktiivisuudet ovat suuria, sillä niiden puoliintumisajat ovat lyhyitä. Näin ollen yhtälön 3 mukaan radioisotoopeilla, joilla on pidempi puoliintumisaika, on myös alhaisempi teoreettinen molaarinen aktiivisuus (Sarja, 2019)(Luurtsema et al., 2021). Radiolääkkeiden molaariset aktiivisuudet eivät kuitenkaan ole teoreettisten arvojen mukaisia. Syntetisoidut leimatut radiomerkkiaineet sisältävät suuren määrän leimaamattomia molekyylejä. Esimerkiksi puhtaiden ^{11}C - ja ^{18}F -leimattujen yhdisteiden teoreettiset molaariset aktiivisuudet ovat 341 TBq/ μmol ja 63,3 TBq/ μmol . Sen sijaan syntetisoitujen ^{11}C - ja ^{18}F -leimattujen yhdisteiden molaariset aktiivisuudet ovat 37–370 GBq/ μmol alueella (Kikuchi et al., 2024).

2.4 Tekijät, jotka vaikuttavat molaarisen aktiivisuuden arvoon

Käytännössä molaariseen aktiivisuuteen vaikuttavat lukuisat tekijät, jotka riippuvat kyseisen radioisotoopin identiteetistä sekä käytetystä tuotantoreitistä. Merkittävimmät tekijät, jotka vaikuttavat molaarisen aktiivisuuden arvoon ovat lähtöaktiivisuus ja ei-aktiivisten isotooppien läsnäolo. Ensimmäisenä mainittu lähtöaktiivisuus ja tarkemmin ottaen sen lisääminen on tyypillinen tapa nostaa molaarisen aktiivisuuden arvoa (Sarja, 2019). Toisaalta suuret alkuaktiivisuudet voivat vaikeuttaa synteesiä ja heikentää radiolääkkeen turvallisuutta. Toinen tapa nostaa molaarisen aktiivisuuden arvoa on johdannossa mainitun kontaminaation vähentäminen eli poistamalla ei-aktiivinen isotooppi mahdollisimman laajasti (Sergeev et al., 2018).

Sergeev et al., 2018 tutkivat synteesissä käytettävän tilavuuden ja alkuaktiivisuuden vaikutusta fluori-18-synteesin molaarisen aktiivisuuden arvoon. He tulivat siihen lopputulokseen, että makroskaalassa fluorin-19-kontaminaation pääasiallinen lähde on käytetyt reagenssit. Näin ollen reaktiotilavuuden kasvaessa fluori-19-kontaminaatio lisääntyi, mikä johti molaarisen aktiivisuuden vähenemiseen. He myös totesivat, että kun makroskaalassa lähtöradioaktiivisuutta lisättiin, jolloin radioaktiivisuus lisääntyi, mutta fluori-19-kontaminaatio ei lisääntynyt merkittävästi niin myös molaarinen aktiivisuus lisääntyi. Sen sijaan mikroskaalassa reagenssien todettiin lisäävän fluori-19-kontaminaatiota vain vähän. Näin ollen, kun reaktiotilavuutta lisättiin, fluorin-19-kontaminaatio pysyi vakiona eikä molaarinen muuttunut. Lähtöaktiivisuuden lisääminen lisäsi sekä radioaktiivisuutta että fluori-19-kontaminaatiota samassa suhteessa, jolloin molaarinen aktiivisuus pysyi ennallaan.

3 Mittaustulosten hyödyntäminen

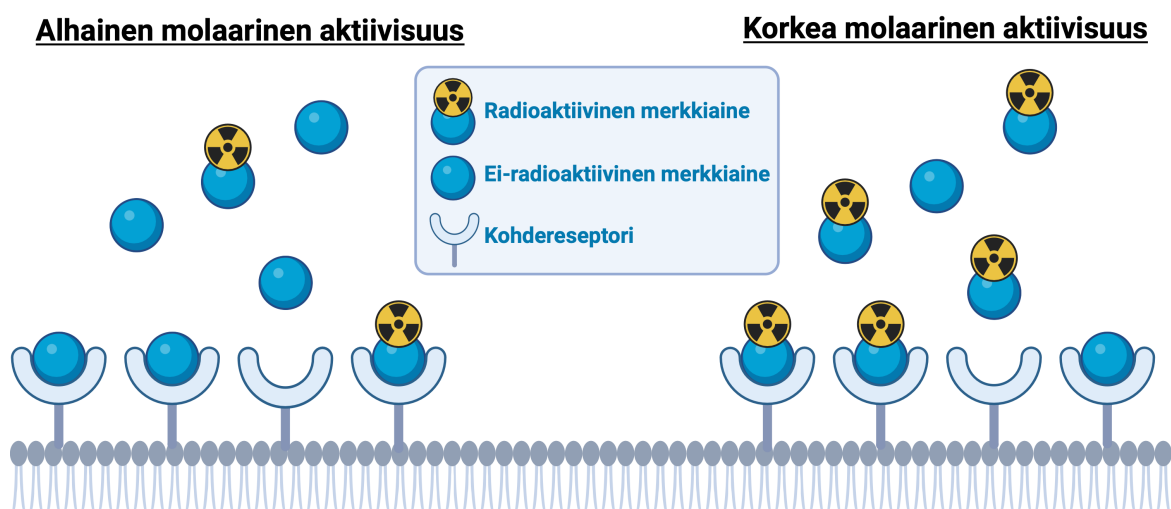
Molaarista aktiivisuutta voidaan pitää tärkeänä laatukriteerinä kahdessa suhteessa (Nics et al., 2018). Ensinnäkin helposti kyllästyvissä kohteissa, kuten reseptori- tai kuljettajaproteiineissa, esiintyy radioaktiivisten ja ei-radioaktiivisten molekyylien välistä kilpailua. Tämä saattaa johtaa kasvavaan ei-radioaktiivisten molekyylien miehitykseen kuvannettavassa kohteessa ja siten vähentää saavutettavaa radioaktiivista signaalia ja näin heikentää PET-kuvan laatua. Lisäksi molaarista aktiivisuutta voidaan pitää tärkeänä tekijänä, sillä ihmisille tai eläimille annettavien ei-radioaktiivisten aineiden määrä on rajoitettava minimiin farmakologisten reaktioiden ja toksisten vaikutusten välttämiseksi (Nics et al., 2018).

Tässä luvussa käsitellään molaarisen aktiivisuuden vaikutusta PET-kuvantamiseen. Tarkastelun kohteena on erityisesti kuvantamisen turvallisuus sekä tutkittavan parametrin

vaikutus PET-kuvien laatuun. Luvussa lopussa esitellään myös näkökulma optimaalisesta molaarisesta aktiivisuudesta, ja käsitellään [^{18}F]AIF-PSMA-11 -merkkiainetta.

3.1 PET-kuvantaminen

Kuten johdannossa todettiin, lopputuotteena muodostuva radiolääke sisältää sekä radioaktiivisia, että ei-radioaktiivisia isotooppeja, joista vain radioaktiiviset isotoopit ovat havaittavissa PET-kameran avulla. PET-kuvantamisen aikana skanneri havaitsee positroneja säteilevillä radioisotoopeilla, esimerkiksi hiili-11:llä tai fluori-18:lla leimatun radiomerkkiaineen kertymisen elimistöön ja näin ollen antaa tarkkaa tietoa elimistön toiminnasta, aineenvaihdunnasta ja biologiasta (Janatuinen & Kemppainen, 2020). PET-kuvan kontrasti riippuu kohdekudoksen ja ympäröivän kudoksen sisältämän radioisotoopin pitoisuuserosta (Vermeulen et al., 2019). Tästä syystä PET-kuvantamista varten valmistetaan mieluiten radiolääkkeitä, joilla on korkea molaarinen aktiivisuus. Radiolääkkeessä tämä tarkoittaa sitä, että se sisältää paljon radioaktiivista isotooppia ja vähemmän ei-radioaktiivista isotooppia (Sarja, 2019). Vaikka korkean molaarisen aktiivisuuden saavuttaminen ei ole helppoa, se on haluttu ominaisuus erityisesti reseptorikuvantamisessa. Reseptorikuvantamisessa vain pieni osa sitoutumispaikoista on PET-radiolääkkeen käytössä ja kyseessä on niin kutsuttu helposti kyllästyvä kohde. Tämä tarkoittaa sitä, että kun alhaisen molaarisen aktiivisuuden radiolääkettä injektoidaan PET-kuvausta varten, näytteessä olevat ei-radioaktiiviset isotoopit voivat täyttää huomattavan osan sitoutumiskohdista kiinnostuksen kohteena olevalla alueella eli ROI-alueella (*region of interest*) (Kuva 5). Tällöin alueen radioaktiivinen signaali on heikko, eikä näin ollen saavuteta riittävän hyvää PET-kuvaa.



Kuva 5. Havainnollistava kuva alhaisesta ja korkea molaarisesta aktiivisuudesta reseptorisitoutumisessa (Muokattu artikkelista Lövdahl et al., 2024)

Prekliinisissä tutkimuksissa on injektoitava radiolääkettä paljon suurempia pitoisuuksia eläimen massaa kohden verrattuna ihmisiin, jotta kuvakontrasti olisi riittävä (Sergeev et al., 2018). Annettu radioaktiivisuusannos ruumiinpainoyksikköä kohti on siis suurempi pieneläinten PET-kuvantamisessa kuin ihmisten kliinisessä PET:ssä (Kikuchi et al., 2024). Esimerkiksi joillakin microPET-kameroilla on suhteellisen pienet herkkyudet, jolloin ne vaativat suuria radioaktiivisuusannoksia pienten tilavuuksien, erityisesti hiiren aivojen rekonstruoimiseksi (Lancelot & Zimmer, 2010). Jos jyrsijä kuitenkin saa samanlaisen annoksen kuin ihminen PET-kuvaukseen, lääkepitoisuus eläimessä on suurempi, ja tämä saattaa kyllästyä herkästi haavoittuvia järjestelmiä (Lancelot & Zimmer, 2010). Lisäksi ei-radioaktiivisen niin kutsutun kylmän yhdisteen suuri injektoitu massa voi vaikuttaa merkittävästi merkkiaineen imeytymisen kinetiikkaan sekä huuhtoutumiseen (Keller, 2019).

PET-kuvantamisen turvallisuuden ja laadun kannalta radioaktiivisuuden ja molaarisen aktiivisuuden on oltava tasapainossa. Tällöin reseptorin kyllästyminen eli täyttyminen ei-aktiivisella yhdisteellä saadaan minimoitua ja toisaalta merkkiaineen sitoutuminen saadaan mahdollisimman suureksi.

3.2 Optimaalinen molaarinen aktiivisuus

Korkea molaarinen aktiivisuus ei aina ole ideaalia. Se ei esimerkiksi ole tarpeen tilanteissa, joissa tarkoituksena on kuvantaa glukoosiaineenvaihduntaa, entsyymiaktiivisuutta tai muita vastaavia toimintoja, jotka eivät ole helposti kyllästettävissä (Lahdenpohja, 2021). Endogeeniset molekyylit, kuten aminohapot, rasvahapot ja glukoosi, jotka ovat leimattu radioisotoopilla, kilpailevat vastaavien endogeenisten yhdisteiden kanssa veressä ja kudoksessa (Luurtsema et al., 2021). Siksi näiltä radiomerkkiaineilla ei yleensä vaadita korkeaa molaarista aktiivisuutta. Esimerkiksi vaikka johdannossa mainittu [^{18}F]-FDG ei ole endogeeninen molekyyli, sen niin kutsuttu otto (Eng. *uptake*) eli paljonko radioleimattuja molekyyliä on sitoutunut kohteeseen, liittyy plasman glukoosipitoisuuteen (Luurtsema et al., 2021). Näin ollen [^{18}F]-FDG, jolla on alhainen molaarinen aktiivisuus ei heikennä PET-kuvan laatua. Samaan aikaan verensokeritasot vaikuttavat merkittävästi tämän merkkiaineen toimintaan, mikä edellyttää [^{18}F]-FDG-kuvauksiin osallistuvilta potilailta paasto-ohjelman noudattamista (Luurtsema et al., 2021).

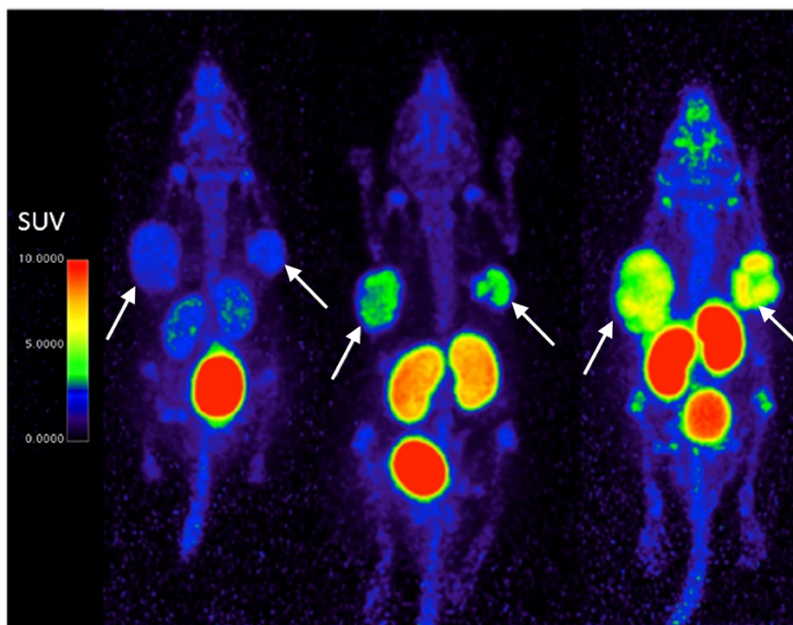
Jotkin radiolääkkeet hyötyvät alhaisemmasta molaarisesta aktiivisuudesta. Erityisesti vasta-aineissa on havaittu, että alhainen molaarisen aktiivisuuden arvo parantaa niiden viipymisaikaa kehossa ja tutkittavassa kudoksessa (Luurtsema et al., 2021). Alhaisen molaarisen aktiivisuuden myötä suuremmat injektoidut vasta-ainemäärät kyllästyttävät maksan

oton, mikä puolestaan lisää radiomerkkiaineen biologista puoliintumisaikaa (Luurtsema et al., 2021). Eri molaaristen aktiivisuuksien valikoiva käyttö voi siis olla keino löytää optimaalinen molaarinen aktiivisuus (Vermeulen et al., 2019).

3.3 Al^{18}F F-PSMA-11

PSMA on solukalvolla sijaitseva entsyymattinen transmembraaniproteiini. Eturauhassyöpien primaarikasvaimista ja etäpesäkkeistä noin 98 % ilmentää tätä entsyymiä (Seppänen et al., 2020). PSMA-entsyymiä esiintyy näiden kasvaimien lisäksi esimerkiksi sylkirauhasissa, maksassa, pernassa ja munuaisissa. Fluori-18-isotoopilla leimattu PSMA on solukalvolla sijaitsevan PSMA:n kohdemolekyylille ja se kilpailee samoista sitoutumispaikoista PSMA:n kanssa (Seppänen et al., 2020).

Piron et al., 2021 suorittivat eturauhassyövän kasvainta kantavalle hiirille kolme PET/CT-kuvausta, joissa jokaisessa käytettiin Al^{18}F F-PSMA-11 -merkkiainetta eri molaarisilla aktiivisuuksilla. Molaariset aktiivisuudet, joita tutkimuksessa käytettiin, olivat korkea ($194,8 \pm 32,1$ MBq/nmol), keskikorkea ($18,91 \pm 1,67$ MBq/nmol) ja alhainen ($1,92 \pm 0,27$ MBq/nmol). Tarkoituksena oli tutkia kasvaimien sekä muiden kudosten ja elinten ottoa. Saadut PET-kuvat osoittavat, että tutkituissa kasvaimissa oli suuri otto, kun hiireen injektioitiin radiolääkettä, jossa oli korkea molaarinen aktiivisuus. Kasvaimen otto vastaavasti väheni alhaisemmalla molaarisella aktiivisuudella (Kuva 6).



Kuva 6. PET-kuvat Al^{18}F F-PSMA-11-injektion jälkeen alhaisella (vas.), keskikorkealla (kesk.) ja korkealla (oik.) molaarisella aktiivisuudella samassa eläimessä. Nuolet osoittavat kasvaimia. (Muokattu artikkelista Piron et al., 2021)

Myös muiden kudosten, esimerkiksi munuaisten, otto väheni alhaisemmalla molaarisella aktiivisuudella, kun taas virtsarakon aktiivisuus lisääntyi. PSMA:ta ilmentävät kudokset, kuten sylkirauhaset, kyynelrauhaset ja perna, näkyivät selvästi korkean molaarisen aktiivisuuden PET-kuvissa. Niitä kuitenkin tuskin havaitsi keskikorkean molaarisen aktiivisuuden kuvissa, eikä niitä voitu havaita alhaisen molaarisen aktiivisuuden kuvissa.

Tuloksista voidaan päätellä, että ero keskikorkean ja korkean molaarisen välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevä kasvaimen sekä sitä ympäröivän elimen oton osalta. Keskikorkean molaarisen aktiivisuuden käyttö voisi siis olla suositeltavampaa, sillä se voisi vähentää aktiivisuuden ottoa PSMA-positiivisissa terveissä kudoksissa ja säilyttää samalla kasvainten kuvakontrastin ympäröivään kudokseen.

4 Johtopäätökset

Tutkielman tavoitteena oli käsitellä PET-radiolääkkeiden molaarisen aktiivisuuden määrittämisen merkitystä, määrittämenetelmää sekä tutkittavan parametrin vaikutusta PET-kuvantamisen laatuun ja radiolääkkeiden turvallisuuteen. Yhtenä tarkastelun kohteena oli esimerkiksi radio-HPLC-analyysi molaarisen aktiivisuuden määrittämiseksi. Johtopäätöksenä voidaan todeta, että molaarisen aktiivisuuden määrittäminen on keskeistä PET-radiolääkkeiden turvallisuuden ja käytön kannalta.

Tutkielmassa tultiin siihen lopputulokseen, että molaariseen aktiivisuuteen vaikuttavat lukuisat eri tekijät, jotka riippuvat radioisotoopin identiteetistä sekä käytetystä tuotantoreitistä. Lisäksi todettiin, että molaarinen aktiivisuus on erityisen tärkeä tekijä PET-kuvantamisessa silloin, kun käytetään merkkiaineita, jotka sitoutuvat helposti kyllästyviin reseptoreihin, kuten luvun 3.3 [^{18}F]AIF-PSMA-11-hiirikuvauksessa. Todettiin, että jos näytteessä on liikaa ei-radioaktiivista merkkiainetta, se voi estää radioaktiivisen merkkiaineen sitoutumisen kohdereseptoreihin ja vähentää radioaktiivisuuden kertymistä kohdekudokseen ja heikentää kuvantamisen laatua.

Vaikka erityisesti korkean molaarisen aktiivisuudet todettiin olevan merkittävänä tekijä, on myös tärkeä nostaa esiin näkökulma optimaalisesta molaarisesta aktiivisuudesta. Tutkielmassa tarkasteltiin tilannetta, jossa korkea molaarinen aktiivisuus ei ole välttämätön. Esimerkiksi [^{18}F]-FDG-merkkiaineen kohdalla todettiin, että korkea molaarinen aktiivisuus ei ole yhtä ratkaiseva, sillä FDG ei perustu reseptorisitoutumiseen. Tällöin ylimääräinen ei-radioaktiivinen FDG ei merkittävästi heikennä kuvantamisen laatua.

Optimaalinen molaarinen aktiivisuus tasapainottaa kuvantamisen tehokkuuden ja potilasturvallisuuden, minimoiden tarpeettoman säteilyaltistuksen ja taaten samalla riittävän

signaalin laadukkaan kuvan tuottamiseksi. Siksi molaarisen aktiivisuuden jatkuva seuranta ja optimointi ovat oleellinen osa PET-kuvantamisen luotettavaa ja turvallista toteutusta.

Viitteet

- Coenen, H. H., Gee, A. D., Adam, M., Antoni, G., Cutler, C. S., Fujibayashi, Y., Jeong, J. M., Mach, R. H., Mindt, T. L., Pike, V. W., & Windhorst, A. D. (2018). Open letter to journal editors on: International Consensus Radiochemistry Nomenclature Guidelines. *Annals of Nuclear Medicine*, 32(3), 236–238. <https://doi.org/10.1007/s12149-018-1238-z>
- Janatuinen, T., & Kempainen, J. (2020). PET-kuvantamisen menetelmät yleistajuisesti. *Duodecim*, 136(9), 1062–1067.
- Keller, T. (2019). *Radiosynthesis of [¹⁸F]F-DPA with various molar activities for the imaging of neuroinflammation*. University of Turku.
- Kikuchi, T., Okamura, T., & Zhang, M. R. (2024). Numerical simulation method for the assessment of the effect of molar activity on the pharmacokinetics of radioligands in small animals. *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry*, 9(78), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s41181-024-00308-5>
- Lahdenpohja, S. (2021). *Synthesis of [¹⁸F]-labelled radiopharmaceuticals for CNS imaging: From radiosynthesis development to GMP production*. University of Turku.
- Lancelot, S., & Zimmer, L. (2010). Small-animal positron emission tomography as a tool for neuropharmacology. *Trends in Pharmacological Sciences*, 31(9), 411–417. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2010.06.002>
- Lee, Y.-S. (2010). Radiopharmaceuticals for Molecular Imaging. *The Open Nuclear Medicine Journal*, 2, 178–185.
- Lövdahl, P., Li, X.-G., & Rosenholm, J. (2024). *Development and biological evaluation of the novel radiotracer [¹⁸F]FNA-N-CooP*. Åbo Akademi.
- Luurtsema, G., Pichler, V., Bongarzone, S., Seimbille, Y., Elsinga, P., Gee, A., & Vercouillie, J. (2021). EANM guideline for harmonisation on molar activity or specific activity of radiopharmaceuticals: impact on safety and imaging quality. *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry*, 6(34), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s41181-021-00149-6>
- Nics, L., Steiner, B., Klebermass, E. M., Philippe, C., Mitterhauser, M., Hacker, M., & Wadsak, W. (2018). Speed matters to raise molar radioactivity: Fast HPLC shortens the quality control of C-11 PET-tracers. *Nuclear Medicine and Biology*, 57, 28–33. <https://doi.org/10.1016/J.NUCMEDBIO.2017.11.006>
- Piron, S., Verhoeven, J., De Coster, E., Descamps, B., Kersemans, K., Pieters, L., Vral, A., Vanhove, C., & De Vos, F. (2021). Impact of the molar activity and PSMA expression level on [¹⁸F]AIF-PSMA-11 uptake in prostate cancer. *Scientific Reports*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02104-6>

- Sarja, N. (2019). *[¹⁸F]Fluoride: molar activity and utility in radiosynthesis and in biological applications* [University of Turku]. <http://www.utupub.fi/handle/10024/147026>
- Seppänen, M., Boström, P. J., Minn, H., & Kempainen, J. (2020). Eturauhassyövän entsyymikuvantaminen PET-menetelmällä. *Duodecim*, *136*(8), 899–909.
- Sergeev, M., Lazari, M., Morgia, F., Collins, J., Javed, M. R., Sergeeva, O., Jones, J., Phelps, M. E., Lee, J. T., Keng, P. Y., & van Dam, R. M. (2018). Performing radiosynthesis in microvolumes to maximize molar activity of tracers for positron emission tomography. *Communications Chemistry*, *1*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s42004-018-0009-z>
- Tuokkola, T., & Knuuti, J. (2018). Positroniemissiotomografia-magneettikuvaus. *Duodecim*, *134*(6), 627–634.
- Vermeulen, K., Vandamme, M., Bormans, G., & Cleeren, F. (2019). Design and Challenges of Radiopharmaceuticals. *Seminars in Nuclear Medicine*, *49*(5), 339–356. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2019.07.001>