

# 2-<sup>18</sup>F-A-85380 的制备与 MicroPET 显像

张 赞<sup>1</sup>, 吴战宏<sup>1</sup>, 李 方<sup>1</sup>, 朱 立<sup>1</sup>, Dollé F<sup>2</sup>, Kühnast B<sup>2</sup>

(1. 中国医学科学院 中国协和医科大学 北京协和医院核医学科, 北京 100730;

2. 法国原子能委员会 约里欧居里医院 生物医学研究所)

**摘要:** 通过对现有 CTI 公司计算机控制化学合成模块 (CPCU) 进行改造, 合成了神经型烟碱乙酰胆碱受体 (nAChRs) 显像剂 2-<sup>18</sup>F-A-85380, 并用高效液相色谱 (HPLC) 检测了其放化纯度及比活度, 所得的产品用于正常大鼠头部 MicroPET 显像。结果显示, 采用改进方法合成 2-<sup>18</sup>F-A-85380 的总时间为 45 min, 放化收率为 50% ± 5% (n=6), 产品的放化纯度 > 99%, 比活度为 0.35 ± 0.02 PBq/g。MicroPET 显像结果表明, 2-<sup>18</sup>F-A-85380 在富含 α<sub>1</sub>β<sub>2</sub> 亚型 nAChRs 受体的丘脑中浓集程度明显高于周围其它组织。以上结果提示, 利用 CPCU 半自动合成 2-<sup>18</sup>F-A-85380, 方法简便、稳定, 产品的比活度较高; 动物实验结果表明 2-<sup>18</sup>F-A-85380 已基本满足临床显像剂的要求。

**关键词:** 2-<sup>18</sup>F-A-85380; microPET; 烟碱乙酰胆碱受体

**中图分类号:** TQ463; R817   **文献标志码:** A   **文章编号:** 1000-7512(2008)01-0015-05

## Synthesis and MicroPET Imaging of 2-<sup>18</sup>F-A-85380

ZHANG Yun<sup>1</sup>, WU Zhan-hong<sup>1</sup>, LI Fang, ZHU Li<sup>1</sup>, Dollé F<sup>2</sup>, Kühnast B<sup>2</sup>

(1. Department of Nuclear Medicine, PUMC Hospital, CAMS and PUMC, Beijing 100730, China;

2. Institute of Biomedical Research, Service Hospitalier Frederic Joliot, CEA, Orsay, France)

**Abstract:** 2-<sup>18</sup>F-A-85380 was synthesized by a modified chemistry process control unit (CPCU). Radiochemical purity and specific radioactivity were measured by High Performance Liquid Chromatograph (HPLC). After tail vein injection of 2-<sup>18</sup>F-A-85380, the rats were scanned with MicroPET. The decay-corrected radiochemical yield of 2-<sup>18</sup>F-A-85380 was 50% ± 5% (n=6) within 45 min total reaction time. The radiochemical purity was around 99% determined by the analytical HPLC. The specific radioactivity was 0.35 ± 0.02 PBq/g. 2-<sup>18</sup>F-A-85380 was successful in visualizing thalamus, which is rich of Nicotinic acetylcholine receptor (nAChRs) compared with other tissues. 2-<sup>18</sup>F-A-85380 can be conveniently synthesized with modified CPCU and the labeling yield was stable, the results of MicroPET imaging indicated that 2-<sup>18</sup>F-A-85380 could be suitable for clinical translation.

**Key words:** 2-<sup>18</sup>F-A-85380; microPET; nAChRs

神经型烟碱乙酰胆碱受体 (nAChRs) 是一种存在于大脑和脊髓等中枢神经组织中的离子通道受体。研究显示, nAChRs 是大脑的认知和记忆功能的影响因素之一, 且与阿尔茨海默病 (AD)、帕金森病 (PD)、癫痫等中枢神经紊乱性疾病和烟草成瘾等密切相关<sup>[1]</sup>。正电子发射断层扫描 (PET) 受体显像技术可对这类受体在体内进行精确定位, 在分子水平研究 nAChRs 受体的功能, 有利于阐明疾病发生过程中 nAChRs 的作用机理, 对于疾病的早期诊断和治疗过程中疗效监测都有重要的作用。

人脑中有 90% 以上的 nAChRs 为  $\alpha_4\beta_2$  亚型<sup>[2]</sup>, 目前已针对该受体开发出了多种 PET 显像剂<sup>[3-5]</sup>。其中最早用于研究的该类 PET 显像剂为  $^{11}\text{C}$ -烟碱<sup>[3]</sup>, 动物体内分布实验结果和竞争抑制实验显示其非特异性结合较高、脑摄取具有血流依赖性而不适宜于临床应用。 $^{11}\text{C}$ -(S)-3-甲基-5-(1-甲基-2-吡咯烷基)异唑 ( $^{11}\text{C}$ -ABT-418) 和  $^{11}\text{C}$  标记金雀碱类化合物  $^{11}\text{C}$ -甲基金雀花碱由于脑渗透率低且清除较快, 不能用于 nAChRs 受体 PET 显像的研究。近年来所开发的一类与烟碱结构相似的化合物 A-85380 (3-[(S)-2-氮杂环丁烷甲氧基]吡啶)<sup>[6]</sup>, 由于对中枢神经 nAChRs 受体具有较高的亲和力和较低的毒性而广受关注,  $^{18}\text{F}$  标记 A-85380 也开始进入临床研究阶段<sup>[7-9]</sup>。本工作拟通过改造 SIEMENS/CTI 公司计算机控制化学合成模块, 在合成模块上合成  $^{2-18}\text{F}$ -A-85380, 并利用 MicoPET 对正常大鼠进行脑部显像研究, 为  $^{2-18}\text{F}$ -A-85380 的临床研究提供参考。

## 1 实验部分

### 1.1 主要试剂、材料及仪器

前体  $\text{Me}_3\text{N}^+\text{-Boc-A-85380} \cdot \text{CF}_3\text{SO}_3^-$  和标准品 F-A-85380 (2-氟-3-[(S)-2-氮杂环丁烷甲氧基]吡啶); 均由法国 Service Hospitalier Frederic Joliot 提供; 乙氰、 $\text{K}_{2.2.2}$ 、无水  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ; 均为美国 Aldrich 公司产品; 无水 DMSO: 瑞士 Fluka 公司; 其余试剂均为国产分析纯。

R201C 型旋转蒸发器: 购自上海申顺生物科技有限公司; QMA 及 C18 固相萃取柱: Sep-Pak, Waters 公司产品; 分析型 C18 反相色谱柱 (Symmetry 300<sup>TM</sup> C18, 5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  250 mm): Waters 公司产品; 半制备型 C18 反相色

谱柱: Vydac 218TP510 (5  $\mu\text{m}$ , 10 mm  $\times$  250 mm), Vydac 公司产品; 带有紫外检测器 (486 型, Waters 公司) 和放射性检测仪 (IN/US Systems, Inc) 的高效液相色谱仪 (515 型, Waters 公司); 计算机控制化学合成模块 (CPCU): SIEMENS/CTI 公司产品; Eplus<sup>TM</sup> Micro-PET: 中国科学院高能物理研究所研制。

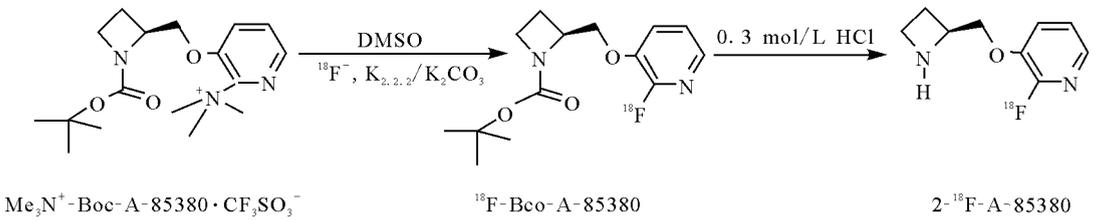
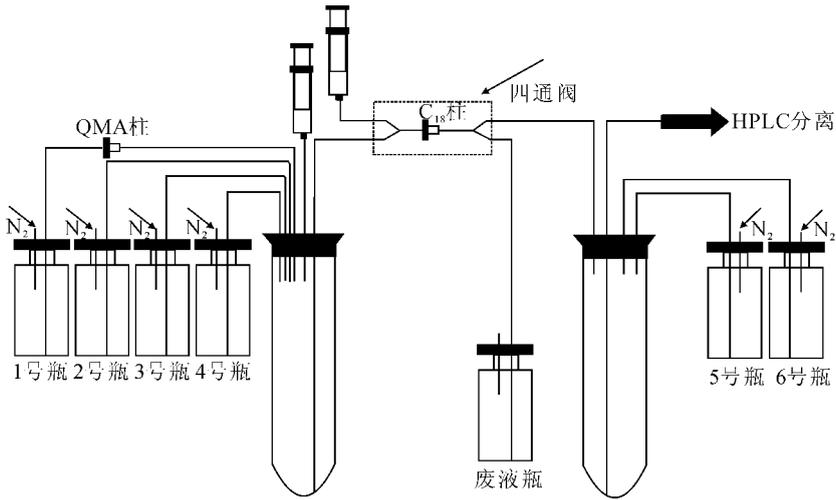
### 1.2 实验动物

雄性 SD 大鼠: 2 只, 清洁级, 体重 150 ~ 200 g, 鼠龄约 5 ~ 6 周, 购自军事医学科学院实验动物中心。

### 1.3 $^{2-18}\text{F}$ -A-85380 的制备

**1.3.1  $^{2-18}\text{F}$ -A-85380 的合成路线**  $^{2-18}\text{F}$ -A-85380 的合成路线示于图 1, 合成流程示于图 2。由图 2 可以看出,  $^{2-18}\text{F}$ -A-85380 的合成分为以下几步: (1)  $^{18}\text{F}^-$  由加速器通过  $^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})$   $^{18}\text{F}$  反应生产。(2) 用 1 号瓶中 Stock 溶液 ( $\text{K}_2\text{CO}_3$  和  $\text{K}_{2.2.2}$  的乙腈/水溶液, 1 mL) 将  $^{18}\text{F}^-$  从 QMA 柱洗脱下来, 收集在反应管 1 中, 在 135  $^\circ\text{C}$  下通  $\text{N}_2$  气蒸干。(3) 将 2 号瓶中的 2 mL 乙腈加入到反应管 1 中, 135  $^\circ\text{C}$  下通  $\text{N}_2$  气蒸干。(4) 将 3 号瓶中前体  $\text{Me}_3\text{N}^+\text{-Boc-A-85380} \cdot \text{CF}_3\text{SO}_3^-$  (1 ~ 1.5 mg) 的 DMSO 溶液 (1 mL) 加入反应管 1 中, 135  $^\circ\text{C}$  反应 10 min。(5) 反应完成后冷却 1 min, 并将 4 号瓶中的 4 mL 去离子水加入反应管 1 中充分混合稀释。稀释后的溶液通过 C18 柱转移至废液瓶中, 再用 5 mL 去离子水冲洗 C18 柱, 氮气吹干。(6) 开启四通阀, 采用 1 mL 乙醇将中间产物从 C18 柱上洗脱至反应管 2 中。(7) 将 5 号瓶中 1 mL HCl (0.3 mol/L) 溶液加入反应管 2 中, 于 100  $^\circ\text{C}$  下反应 5 min。(8) 反应液经半制备型 C18 反相色谱柱 (Vydac 218TP510, 5  $\mu\text{m}$ , 10 mm  $\times$  250 mm) 分离, 流动相为  $V(\text{含 } 0.1\% \text{ 三氟乙酸的水}) : V(\text{含 } 0.1\% \text{ 三氟乙酸的乙腈}) = 9 : 1$  混合溶液, 流速为 3.0 mL/min, 收集 5.5 ~ 6.5 min 馏分。收集到的馏分经旋转蒸发器蒸干后用适量生理盐水稀释并通过无菌滤膜收集到产品瓶中。

**1.3.2  $^{2-18}\text{F}$ -A-85380 的放化纯度及比活度检测** 采用 HPLC 测定产品的放化纯度及比活度, 所使用色谱柱为 Symmetry 300<sup>TM</sup> C18 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  250 mm), 流动相为  $V(0.1\% \text{ 三氟乙酸的水}) : V(\text{乙腈}) = 9 : 1$  混合溶液, 流速为 1.0 mL/min, 紫外检测波长为 276 nm。精密称

图 1  $2\text{-}^{18}\text{F}\text{-A-85380}$  的放化合成路线图 2  $2\text{-}^{18}\text{F}\text{-A-85380}$  的 CUCP 合成流程图

取适量标准品  $2\text{-F-A-85380}$ , 用双蒸水溶解后得到标准对照溶液, 分别取 5、10、20、50、100 及 150  $\mu\text{L}$  该对照液进样分析, 并记录得到相应紫外吸收峰的峰面积。根据进样量和对应的峰面积绘制标准曲线, 得出线性方程, 计算产品的比活度。

#### 1.4 $2\text{-}^{18}\text{F}\text{-A-85380}$ 的动物显像

取 SD 大鼠 2 只, 给药前未禁食禁水。将合成得到的  $2\text{-}^{18}\text{F}\text{-A-85380}$  用生理盐水稀释至 74 GBq/L, 按每只 0.5 mL (约 37 MBq) 经尾静脉注入大鼠体内。分别在给药后 30、60 及 180 min 对大鼠头部进行 MicroPET 静态扫描, 每个时相扫描 10 min。所使用的 MicroPET 为 32 环, 1.9 mm  $\times$  1.9 mm  $\times$  10 mm LYSO 晶体阵列, 检测器内径为 160 mm, 动物入口直径为 160 mm, 图像位置分辨率约为 1.8 mm。

## 2 结果和讨论

### 2.1 $2\text{-}^{18}\text{F}\text{-A-85380}$ 的合成

由于原有 CTI 公司的 CPCU 在反应管 1

和反应管 2 间无废液瓶, 无法用于中间产物的纯化, 本工作通过对其进行改造, 采用四通阀替换在反应管 1 及反应管 2 之间的二通阀, 用于纯化中间产物去除未反应完全的  $^{18}\text{F}^-$  和反应溶液中的 DMSO (图 2)。整个合成过程在 45 min 内完成 (包括 HPLC 分离时间), 与文献<sup>[10-11]</sup>报道时间 (50~55 min) 相近, 合成方法快捷、简便、稳定, 并易于操作。总的衰变校正后的放化收率为  $50\% \pm 5\%$  ( $n=6$ ), 略低于文献<sup>[10-11]</sup>结果 (68%~73%)。分析原因, 可能是由于本工作起始的放射性总量较少, 而且由于客观条件, 转移放射性的管线过长, 导致放射性在该过程中的损失相对较高, 因而降低了总的放化收率。

分离纯化产品的半制备 HPLC 结果示于图 3。由图 3b 可以看出, 产品在 HPLC 纯化前的放化纯度已达到 95% 以上, 但图 3a 显示, 产品的化学纯度很低。由于  $2\text{-}^{18}\text{F}\text{-A-85380}$  是一个受体配体特异性结合的显像剂, 对其比活度要求较高, 因此需要去除化学杂质。

## 2.2 $2\text{-}^{18}\text{F-A-85380}$ 的放化纯度及比活度检测

终产物与标准品的 HPLC 谱示于图 4。图 4a 紫外吸收分析显示,紫外检测波长为 276 nm 下保留时间为 5.432 min。图 4b 显示, $2\text{-}^{18}\text{F-A-85380}$  的保留时间为 6.05 min,与紫外检测得到的保留时间一致,延迟时间约为 0.6 min。分析图 4b 可知, $2\text{-}^{18}\text{F-A-85380}$  放化纯度  $> 99\%$ 。 $2\text{-}^{18}\text{F-A-85380}$  标准品的进样物质的量与检测到的紫外吸收峰峰面积构建的线性方程为  $Y = 0.0004X - 6.1981$ ,其中  $Y$  为样品的质量 (ng), $X$  为紫外吸收峰峰面积。计算得产品的比活度为  $0.35 \pm 0.02$  PBq/g。

## 2.3 $2\text{-}^{18}\text{F-A-85380}$ 的动物显像

图 5 为注射  $2\text{-}^{18}\text{F-A-85380}$  后不同时相大鼠头部的 MicroPET 显像结果,上、下两排分别为冠状面及横切面的显像图。从图 5 可观察到

$2\text{-}^{18}\text{F-A-85380}$  在丘脑摄取较高,其浓集程度明显高于周围组织,且丘脑中  $2\text{-}^{18}\text{F-A-85380}$  的相对摄取量在注射后 180 min 内一直保持比较高的水平。表明  $2\text{-}^{18}\text{F-A-85380}$  与  $\alpha_4\beta_2$  亚型 nAChRs 受体结合稳定,且特异性较好,清除较慢。文献<sup>[1]</sup>报道, $\alpha_4\beta_2$ 亚型 nAChRs 受体在大脑中主要分布于丘脑、皮质和纹状体,其中丘脑中受体的含量最高,因此特异性  $\alpha_4\beta_2$ 亚型 nAChRs 受体显像剂在丘脑的浓聚程度应最高。Dolle F 等<sup>[9]</sup>对  $2\text{-}^{18}\text{F-A-85380}$  进行的动物体内分布实验结果显示,注射后 60 min,大鼠的丘脑、皮质和小脑的放射性摄取率分别为 1、0.85 和 0.57% ID/g,而且丘脑的摄取并不随时间的变化而明显降低。采用不同 nAChRs 受体的配体处理后,大鼠上述组织放射性摄取率都显著降低<sup>[9]</sup>。本工作所得结果与文献一致。

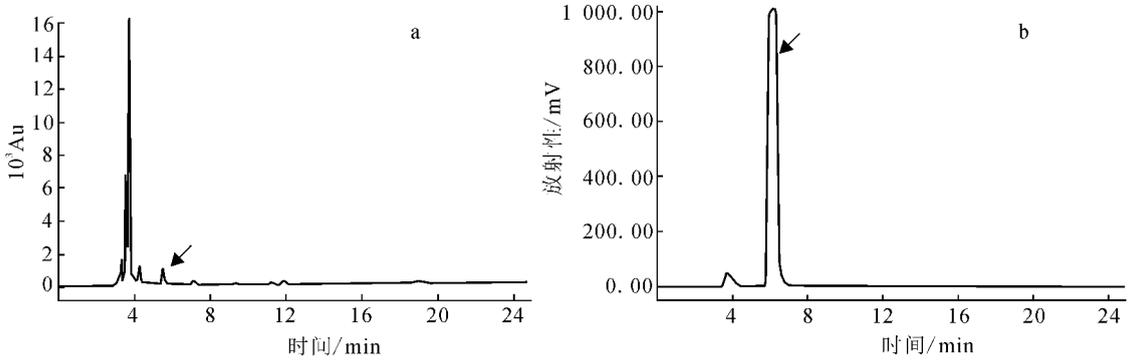


图 3  $2\text{-}^{18}\text{F-A-85380}$  的半制备 HPLC 结果

a——紫外峰;b——放射性峰;箭头所指为产品

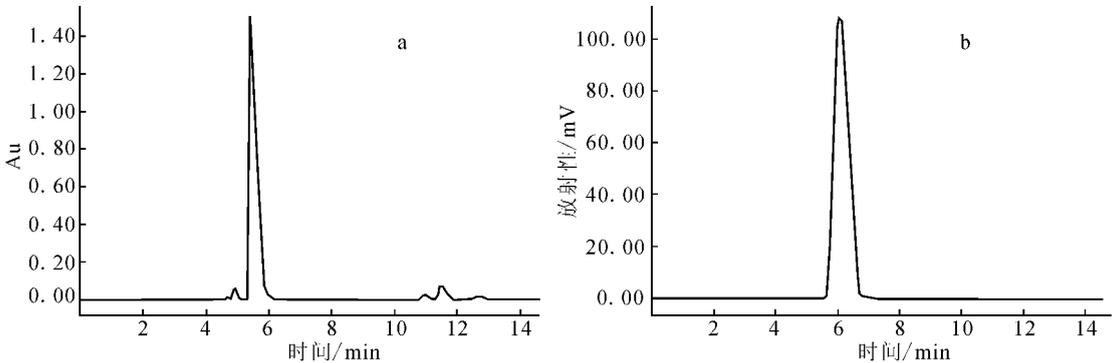


图 4  $2\text{-}^{18}\text{F-A-85380}$  的 HPLC 结果

a——标准品的紫外峰;b——产品的放射性峰

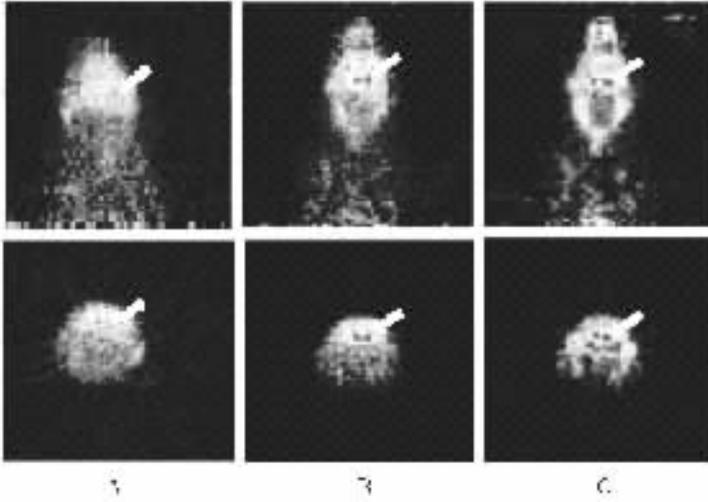


图 5 大鼠脑部的 MicroPET 显像图  
上和下分别为冠状面及横切面

### 3 结 论

利用实验室现有条件,通过改造 CTI 公司的合成模块,成功合成了 2-<sup>18</sup>F-A-85380,合成时间为 45 min,放化收率为 50%±5%(*n*=6),有效提高了合成效率。产品的放化纯度大于 99%,且比活度较高。2-<sup>18</sup>F-A-85380 正常大鼠 MicroPET 头部显像结果显示,其与  $\alpha_4\beta_2$  亚型 nAChRs 受体特异性结合较好,在富含 nAChRs 受体的丘脑中浓集程度明显高于周围其它组织,能够满足临床使用,有望在短期内作为中枢型 nAChRs 受体的 PET 显像剂在临床应用,指导和监测阿尔茨海默病、帕金森病及癫痫等疾病的治疗及药物成瘾的研究。

### 参考文献:

- [1] DANI JA. Overview of Nicotinic Receptors and Their Roles in the Central Nervous System [J]. *Biol Psychiatry*, 2001, 49:166-174.
- [2] SIHVER W, LANGSTROM B, NORDBERG A. Ligands for in Vivo Imaging of Nicotinic Receptor Subtypes in Alzheimer Brain [J]. *Acta Neurol Scand*, 2000, 176 (Suppl):27-33.
- [3] PATERSON D, NORDBERG A. Nicotinic Acetylcholine Receptor and Imaging [J]. *Prog Neurobiol*, 2000, 61:75-111.
- [4] VALETTE H, BOTTLAENDER M, DOLLE F, et al. An Attempt to Visualize Brain Nicotinic Receptors With <sup>11</sup>C-ABT-418 and N-<sup>11</sup>C-methyl Cytisine[J]. *Nucl Med Commun*, 1997, 18:164-168.
- [5] ROGER G, LAGNEL B, ROUDEN J. Synthesis of a 2-pyridinyl-<sup>18</sup>F-labeled Fluoro Derivative of (-)-cytisine as a Candidate Radioligand for Brain Nicotinic  $\alpha_4\beta_2$  Receptor Imaging With PET [J]. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11:5 333-5 343.
- [6] HOLLADAY MW, DART MJ, LYNCH JK. Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors as Targets for Drug Discovery [J]. *J Med Chem*, 1997, 40 (26): 4 169-4 194.
- [7] BOTTLAENDER M, VALETTE H, ROUMENOV D, et al. Biodistribution and Radiation Dosimetry of <sup>18</sup>F-fluoro-A-85380 in Healthy Volunteers [J]. *J Nucl Med*, 2003, 44 (4):596-601.
- [8] DOLLE F, VALETTE H, BOTTLAENDER M, et al. Synthesis of 2-[<sup>18</sup>F]Fluoro-3-[2(S)-azetidynylmethoxy] Pyridine, a Highly Potent Radioligand for in Vivo Imaging Central Nicotinic Acetylcholine Receptors [J]. *J Labeled Compd Radiopharm*, 1998, 41:451-463.
- [9] DOLLE F, DOLCI L, VALETTE H, et al. Synthesis and Nicotinic Acetylcholine Receptor in Vivo Binding Properties of 2-Fluoro-3-[2(S)-azetidynylmethoxy] pyridine; a New Positron Emission Tomography Ligand for Nicotinic Receptors [J]. *J Med Chem*, 1999, 42:2 251-2 259.
- [10] MITKOVSKI S, VILLEMAGNE VL, NOVAKOVIC KE, et al. Simplified Quantification of Nicotinic Receptors With 2-[<sup>18</sup>F]F-A-85380 PET [J]. *Nucl Med Biol*, 2005, 32(6):585-591.
- [11] GALLEZOT JD, BOTTLAENDER MA, DELFORGE J, et al. Quantification of Cerebral Nicotinic Acetylcholine Receptors by PET Using 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-A-85380 and the Multiinjection Approach [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28 (1): 172-189.