

PET 肿瘤显像剂¹⁸F-氟乙基胆碱的自动化合成

党永红, 李 方, 吕京桥, 邢海群

(中国医学科学院 北京协和医学院, 北京协和医院 核医学科, 北京 100730)

摘要: ¹⁸F-氟乙基胆碱(¹⁸F-FECH)是反映胆碱代谢的 PET 肿瘤显像剂, 在肿瘤特别是脑肿瘤诊断中显示出良好的应用前景。为了方便临床应用, 本工作利用 PET-MF-2V-IT-I 型¹⁸F 多功能合成模块, 自动化合成¹⁸F-FECH。首先¹⁸F⁻与 1,2-乙二醇二对甲苯磺酸酯在 90 °C 下发生亲核取代反应, 产物未经纯化即与 N,N-二甲基乙醇胺在 100 °C 下发生烷基化反应, 此后经过 C18 柱和 CM 柱进行分离纯化, 得到目标产物。整个过程需时约 40 min, 最终产品放化收率 30% (未经时间校正), 放化纯度 ≥ 99%, 室温下可稳定放置 6 h。本方法简便易行, 合成时间短, 收率较高, 产品稳定性好, 且其它各项指标均符合规定, 为临床常规应用提供了保证。

关键词: ¹⁸F-氟乙基胆碱(¹⁸F-FECH); 显像剂; PET; 自动化合成

中图分类号: TQ463.7; R817.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7512(2010)02-0081-05

Automatic Synthesis of Tumor Imaging Agent ¹⁸F-fluoroethylcholine

DANG Yong-hong, LI Fang, Lü Jing-qiao, XING Hai-qun

(Department of Nuclear Medicine, PUMC Hospital, Peking Union Medical College
& Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100730, China)

Abstract: ¹⁸F-fluoroethylcholine (¹⁸F-FECH) which reflects the metabolism of choline has been demonstrated to be an promising tumor imaging agent for PET, especially in brain tumor imaging. For utilization in the clinic, this tracer was radiosynthesized automatically with high yields and short synthesis time by using PET-MF-2V-IT-I fluoro-multifunction synthesizer. The two step reactions were processed in the same reaction vessel. The target product was obtained via C18 and CM Sep-pak Plus cartridge with about 30% radiochemical yield (no decay corrected) and more than 99% radiochemical purity within 40 min of total synthesis time, which was stable for 6 h at room temperature. The automatic radiosynthesis procedure have some advantage, such as easy, high yields and short synthesis time and it has potentially utilizable in routine production sites.

Key words: ¹⁸F-fluoroethylcholine (¹⁸F-FECH); imaging agents; PET; automatic synthesis

^{2-¹⁸F-2-脱氧-D-葡萄糖 (FDG) 是目前 PET 最常用的反映细胞糖代谢的肿瘤显像剂, 但¹⁸F-}

FDG 存在特异性较差、有时出现假阳性、不能区分肿瘤和炎症等缺点, 在某些脑肿瘤、肺癌、前列

腺癌等的诊断和鉴别中存在很多困难。为弥补 ^{18}F -FDG 不足,研究人员致力于新肿瘤显像剂的研究。

胆碱是所有细胞用于生物合成磷脂的前体,而磷脂是细胞膜的重要组成成分。肿瘤的特点是细胞增殖快,迅速增生的肿瘤组织增加了对胆碱的需求。因此胆碱也成为一类重要的代谢显像剂。 ^{11}C -胆碱作为第一个胆碱类显像剂,已成功应用于脑肿瘤、肺癌、食管癌、结肠癌以及前列腺癌等恶性肿瘤诊断^[1-2]。但 ^{11}C 的半衰期短,只有 20 min,只能在配备加速器的单位使用,这就推动了具有较长半衰期的 ^{18}F ($t_{1/2}=109\text{ min}$)标记的胆碱类显像剂的发展^[3-7]。研究^[8-9]表明, ^{18}F 标记的胆碱类似物在脑肿瘤的诊断中显示出良好的应用前景。其中 ^{18}F -氟乙基胆碱(^{18}F -FECH)与 ^{11}C -胆碱的体内分布相似,且在前列腺癌患者体内获得了良好的显像结果^[7]。在德国, ^{18}F -FECH 用于诊断前列腺癌已进入了三期临床阶段^[10];而国内, ^{18}F -FECH 在北京协和医院已通过伦理委员会的审批,进入备案前的临床试验阶段。

吴战宏等^[11]曾成功合成 ^{18}F -FECH,但其合成时间较长且收率较低。PET-MF-2V-IT-I 型 ^{18}F 多功能合成模块是商品化的用于研制、生产 ^{18}F 标记化合物的合成装置,它通过计算机控制,可依据需要按手动、自动和半自动方式合成多种常规和复杂的 ^{18}F 标记物。模块的使用不仅可简化操作,而且也有利于辐射防护。为了保证临床试验工作的顺利进行并推广 ^{18}F -FECH 的临床应用,本工作拟利用现有的模块,进行 ^{18}F -FECH 的自动化合成研究,建立一种通用的自动化合成方法。

1 主要实验材料和仪器

1.1 试剂与材料

1, 2-乙二醇二对甲苯磺酸酯(纯度 $>97\%$)和无水 K_2CO_3 (纯度 99.995%);美国 Aldrich 公司产品;N, N-二甲基乙醇胺(纯度 $\geq 98\%$);美国 Fluka 公司产品;无水乙腈(纯度 99.9%)和 $\text{K}_{2.2.2}$ (纯度 98%);比利时 Acros 公司产品;HPLC 乙腈(色谱纯);瑞士 Fisher 公司产品。

其余试剂均为国产分析纯。QMA (Sep-pak Light)、C18 (Sep-Pak Plus)、CM 柱 (Sep-Pak Plus);美国 Waters 公司产品;Adsorbosphere SCX 色谱柱(5 μm , 4.6 mm \times 250 mm);美国 Alltech 公司产品,60F254 薄层层析硅胶板;德国 Merck 公司产品;Millex-GS 0.22 μm 除菌过滤器;美国 Millipore 公司产品。

1.2 仪器

RDS111 型回旋加速器;美国 CTI 公司产品;PET-MF-2V-IT-I 型 ^{18}F 正电子药物合成模块;北京派特生物技术有限公司产品;高效液相色谱仪:配 515 型泵,美国 Waters 公司产品;486 型高效液相色谱紫外检测器;美国 Waters 公司产品;高效液相色谱放射性检测器;美国 Bio-Scan 公司产品;Mini-Scan 和 Flow Counter;美国 Bio-Scan 公司产品;CRC-15R 型放射性活度计;美国 CAPINTEC 公司产品。

2 实验方法

2.1 合成模块

PET-MF-2V-IT-I 型 ^{18}F 多功能合成模块结构示意图示于图 1。根据 ^{18}F -FECH 的合成路线与处理方式编写了合成控制程序。

2.2 ^{18}F -FECH 的自动化合成

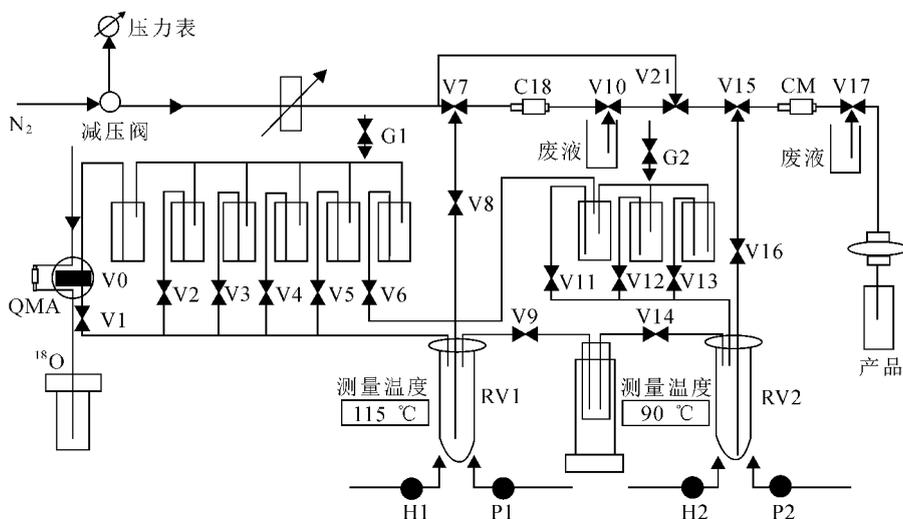
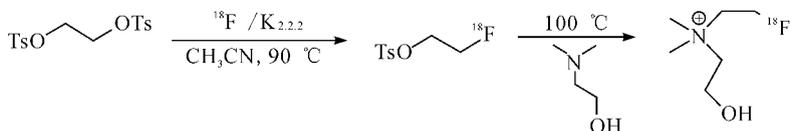
^{18}F -FECH 的自动化合成路线示于图 2。由图 2 可知, ^{18}F 与 1,2-乙二醇二对甲苯磺酸酯反应生成中间体 ^{18}F -氟乙基对甲苯磺酸酯,中间体再与 N,N-二甲基乙醇胺发生烷基化反应得到 ^{18}F -FECH,经过 C18 和 CM 柱分离纯化得到最终产品。

具体反应过程如下。

(1) 1 号瓶中的 1.5 mL STOCK 溶液($\text{K}_{2.2.2}$ 13 g/L, K_2CO_3 3 g/L)将富集在 QMA 柱上的 $^{18}\text{F}^-$ 淋洗至 1 号反应管(RV1)中,加热至 116 $^\circ\text{C}$ 下蒸干溶液。

(2) 将 2 号瓶中的 2 mL 无水乙腈加入到 RV1 中,加热至 116 $^\circ\text{C}$,蒸干溶液,冷却。

(3) 将 3 号瓶中的液体(12 mg 1,2-乙二醇二对甲苯磺酸酯溶于 0.8 mL 无水乙腈)加入 RV1 中,于 90 $^\circ\text{C}$ 下反应 5 min。升温至 115 $^\circ\text{C}$,蒸除溶剂。

图 1 ¹⁸F 多功能合成模块结构示意图图 2 ¹⁸F-FECH 的自动化合成路线

(4) 冷却 RV1 后加入 4 号瓶中的 0.3 mL N,N-二甲基乙醇胺, 100 °C 下反应 8 min, 冷却。

(5) 向 RV1 中加入 5 号瓶中的 2 mL 去离子水, 经过 C18 柱转移至第二个反应管 (RV2) 中。

(6) 将 RV2 中的液体转移至 CM 柱上, 洗出液引入废液瓶。

(7) 加入 12 号瓶中的 10 mL 乙醇至 RV2 中, 清洗 CM 柱。

(8) 将 6 号瓶中的 20 mL 灭菌注射用水转移至 11 号瓶中, 然后加入到 RV2 中, 再次清洗 CM 柱。

(9) 将 13 号瓶中的 5 mL 生理盐水加入到 RV2 中, 将 CM 柱上的产品洗脱下来, 洗脱液经过 0.22 μm 除菌过滤器收集在 30 mL 无菌产品中, 得到无色澄明的¹⁸F-FECH 注射液。

2.3 产品的质量

(1) 目测产品的颜色及澄明度, 用精密 pH 试纸测定 pH。

(2) 采用高效液相色谱 (HPLC) 法和薄层层析 (TLC) 法检测产品的放化纯度。HPLC 法的色谱条件为: V (0.25 mol/L 磷酸二氢钠

溶液): V (乙腈) = 90 : 10 为流动相, 流速为 1.0 mL/min, 紫外检测波长为 206 nm。TLC 法所用展开剂为 5% 乙酸溶液。

(3) 检测产品中 K_{2.2.2} 的含量。采用薄层层析法, V (甲醇) : V (氨水) = 9 : 1 为展开剂, 碘铂酸钾显色。

(4) 参照中国药典 2005 年版二部附录 XI E 进行无菌和细菌内毒素检查。

(5) 室温下测定 3 个半衰期内 (6 h) 的放化纯度, 观察其稳定性。

3 结果与讨论

3.1 ¹⁸F-FECH 的自动化合成

整个自动化合成过程需时约 40 min, 产品的放化收率为 30% (未经时间校正)。与文献 [6-7, 11-16] 中其他应用模块合成的结果相比, 反应时间和放化收率差于 Pascali 等^[16] 的方法, 而要好于其它几种方法。提示反应的条件和参数还可以进一步优化, 从而在更短的时间里得到更高放化收率的产品。

本方法采用了两步反应在同一个反应管中进行的方法。文献中单管反应产品纯化采用的

方法有两种:一种是相对比较烦琐的 HPLC 法,另一种是比较简便的固相萃取法。唐刚华^[12]和王明伟等^[15]使用硅胶柱进行纯化,但合成时间较长(80 min 和 65 min),且收率相对较低。本工作也对此纯化方法进行过比较,结果显示,用水清洗硅胶柱不能完全除去 N,N-二甲基乙醇胺;分别用乙醇和水清洗(至产品中闻不到 N,N-二甲基乙醇胺的气味),则放化收率约为 20% (未经时间校正)。故本工作采用了 C18 柱和 CM 柱对产品进行固相萃取分离。

3.2 C18 柱对合成效率的影响

CM 柱是弱的阳离子交换柱,可以吸附¹⁸F-FECH,从而达到纯化目的。单管反应时,氟代反应中碳酸钾中钾离子的存在对 CM 吸附最终产品的影响很大,常常会造成产品在 CM 柱上的漏穿。本工作在 CM 柱前加了 C18 柱。在相同的反应条件下,C18 柱对合成效率的影响列于表 1。从表 1 可以看出,在相同的反应条件下,不用 C18 柱的合成效率只有 5%~8%,仅为采用 C18 柱的 1/4,说明有大部分产品从 CM 柱上漏穿。因此 C18 柱不仅可以去除未反应的 1,2-乙二醇二对甲苯磺酸酯及反应中间体¹⁸F-氟乙基对甲苯磺酸酯,而且可以吸附与 K_{2.2.2}络合的钾离子,是保证合成效率的重要环节。经过 C18 柱的纯化后,CM 柱只能吸附最终产品,用乙醇和水可以将未反应的 N,N-二甲基乙醇胺及¹⁸F-等其他杂质冲洗掉,生理盐水淋洗后即得最终产品。

表 1 C18 柱对合成效率的影响

是否用 C18 柱	合成次数	¹⁸ F-活度/MBq	合成效率/%
是	10	370	20~30
否	5	370	5~8

3.3 ¹⁸F-FECH 注射液的质量控制

(1) 所得产品为无色澄明液体,pH 为 7.0~8.0。

(2) 产品¹⁸F-FECH 的 HPLC 和 TLC 谱图分别示于图 3 和图 4。由图 3 可以看出,产品的保留时间为 4.21 min,FECH 标准品^[11]的保留时间为 4.03 min,即产品的放射性吸收峰与标准品的紫外吸收峰的保留时间一致,表明¹⁸F 标记 FECH 后没有改变 FECH 的化学结构。由图 4 可见,产品只有唯一的放射性吸收峰,根据此

峰可计算得¹⁸F-FECH 放化纯度>99%。

(3) 显色后,样品斑点的颜色不比浓度为 25 mg/L 的 K_{2.2.2} 标准溶液的斑点颜色深。说明产品中的 K_{2.2.2} 含量小于 25 mg/L。

(4) 产品的细菌及细菌内毒素检查均符合规定。

(5) 图 5 为¹⁸F-FECH 室温放置 6 h 后的 HPLC 色谱图。由图 5 可以看出,产品的放化纯度没有明显变化,仍大于 98%。表明产品的稳定性较好。

以上结果说明本方法所合成的¹⁸F-FECH 注射液符合放射性药物的质量要求,可安全用于临床。

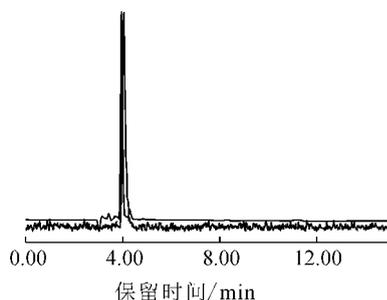


图 3 ¹⁸F-FECH 注射液的 UV 和 HPLC 重叠谱图

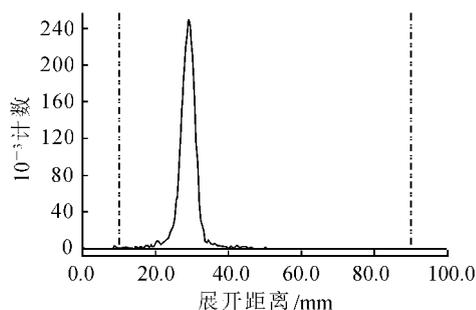


图 4 ¹⁸F-FECH 注射液的 TLC 谱图($R_f=0.22$)

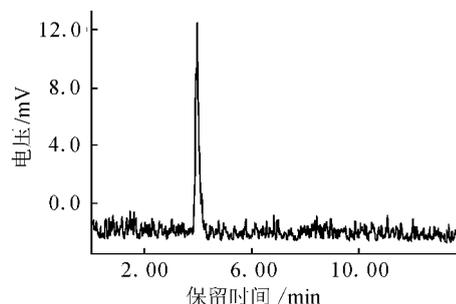


图 5 ¹⁸F-FECH 注射液室温放置 6 h 后的 HPLC 色谱图

4 结 论

本工作利用 PET-MF-2V-IT-I 型¹⁸F 多功能合成模块自动化合成了¹⁸F-FECH, 合成时间为 40 min, 产品的放化收率为 30% (未经时间校正), 放化纯度大于 99%, 稳定性好, 其余各项指标均符合要求。该自动化合成方法简便快速, 为临床诊断工作提供了有力的保证。在今后的工作中需进一步优化反应条件和参数, 使该方法更加完善。

致谢:感谢北京派特生物技术有限公司杨建华工程师在模块使用中给予的指导与帮助。

参考文献:

- [1] Hara T, Kosaka N, Kondo T, et al. Imaging of brain tumor, lung cancer, esophagus cancer, colon cancer, and bladder cancer with [C-11]choline [J]. *J Nucl Med*, 1997, 38(Suppl): 250.
- [2] Hara T, Kosaka N, Shinoura N, et al. PET imaging of brain tumor with [methyl-¹¹C] choline[J]. *J Nucl Med*, 1997, 38: 842-847.
- [3] Hara T, Yuasa M. Automated synthesis of fluorine-18 labeled choline analogue: 2-fluoroethyl-dimethyl-2-oxyethylammonium[J]. *J Nucl Med*, 1997, 38(Suppl): 44.
- [4] DeGrado TR, Coleman RE, Wang S, et al. Synthesis and evaluation of ¹⁸F-labeled choline as an oncologic tracer for positron emission tomography: initial findings in prostate cancer[J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 110-117.
- [5] Hara T. ¹⁸F-Fluorocholine: a new oncologic PET Tracer[J]. *J Nucl Med*, 2001, 42: 1 815-1 817.
- [6] DeGrado TR, Baldwin SW, Wang S, et al. Synthesis and evaluation of ¹⁸F-labeled choline analogs as oncologic PET tracers[J]. *J Nucl Med*, 2001, 42: 1 805-1 814.
- [7] Hara T, Kosaka N, Kishi H. Development of ¹⁸F-fluoroethylcholine for cancer imaging with PET: synthesis, biochemistry, and prostate cancer imaging[J]. *J Nucl Med*, 2002, 43: 187-199.
- [8] Kwee SA, Ko JP, Jiang CS, et al. Solitary brain lesions enhancing at MR imaging: evaluation with fluorine 18-fluorocholine PET [J]. *Radiology*, 2007, 244: 557-565.
- [9] Kwee SA, Degrado TR, Talbot JN, et al. Cancer imaging with fluorine-18 labeled choline derivatives [J]. *Semin Nucl Med*, 2007, 37(6): 420-428.
- [10] Clinical Value of ¹⁸F-ethylcholine-positron emission tomography (PET) combin with endorectal MRI for pre-therapeutic staging of prostate cancer (FEC-PET/MRI) [EB/OL]. (2009-09-17). <http://clinicaltrials.gov/show/NCT0052046>.
- [11] 吴战宏, 王世真, 周前, 等. ¹⁸F 标记氟乙基胆碱的合成与动物显像[J]. *中华核医学杂志*, 2005, 25: 138-140.
- [12] 唐刚华, 唐小兰, 王明芳, 等. ¹⁸F-胆碱类似物的制备及动物体内分布研究[J]. *中华核医学杂志*, 2002, 22: 172-174.
- [13] Piel M, Bauman A, Baum RP, et al. Improved automated synthesis of [¹⁸F]fluoroethylcholine as a radiotracer for cancer imaging [J]. *Bioorganic Med Chem*, 2007, 15: 3 171-3 175.
- [14] 郭莘, 戴红峰. ¹⁸F-胆碱类似物的自动化合成[J]. *化学工程与装备*, 2008, 6: 29-31.
- [15] 王明伟, 章英剑, 张勇平, 等. 肿瘤分子显像剂¹⁸F-氟乙基胆碱的自动化合成[J]. *核技术*, 2008, 31: 859-863.
- [16] Pascali G, Antonio LD, Bovone P, et al. Optimization of automated large-scale production of [¹⁸F]fluoroethylcholine for PET prostate cancer imaging [J]. *Nucl Med Biol*, 2009, 36: 569-574.