

◇ 药学研究 ◇

固相萃取合成 PET-CT 肿瘤探针 2-[¹⁸F]-2-脱氧-β-D-葡萄糖及其影响因素初探

谢强,汪世存

(安徽省立医院 PET-CT 中心,安徽 合肥 230001)

摘要:目的 探讨常见肿瘤显像剂 2-[¹⁸F]-2-脱氧-β-D-葡萄糖([¹⁸F]-FDG)在西门子 Explora One 化学合成模块上全自动合成方法、质量控制以及影响因素。方法 西门子 Eclipse RD 回旋加速器生产出 [¹⁸F]⁻ 与以三氟甘露糖为前体进行亲核取代反应合成乙酰化 [¹⁸F]-FDG,高纯氮气推动, Sep-Pak[®] C₁₈ 萃取柱吸附中间体,氢氧化钠水解 C-18 柱上中间产物,经纯化,灭菌最终得到 [¹⁸F]-FDG 注射液。通过薄层色谱法对合成的产品进行放射化学纯度(RCP)检测,肿瘤患者行 [¹⁸F]-FDG PET-CT 扫描。结果 最终合成产物 [¹⁸F]-FDG 的 RCP > 95%, 20 mg 的三氟甘露糖可获得未校正合成效率约为 60%。结论 使用 ABX [¹⁸F]-FDG 套件, Explora One 化学合成模块实现固相萃取法合成 PET 显像剂 [¹⁸F]-FDG, 合成时间短, 稳定快捷。

关键词: 正电子发射断层扫描及电脑断层扫描; 3-O-甲基葡萄糖; 固相萃取; 工艺学; 制药

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.07.006

Solid-phase extraction synthesis PET-CT tumor probe 2-[¹⁸F]-2-deoxy-β-D-glucose and its influencing factors

XIE Qiang, WANG Shicun

(PET-CT center, Anhui Provincial Hospital, Hefei, Anhui 230001, China)

Abstract: Objective To present a method for automatic synthesis of common tumor imaging agents [¹⁸F]-FDG by Explora One module from Siemens corporation, and discuss the method for quality control, factors that affect synthesis of the tracers. **Methods** Siemens Eclipse RD cyclotron firstly produced [¹⁸F]⁻ and interacted with a precursor (1,3,4,6-4-O-acetyl-2-O-trifluorosulfonyl-beta-D-pyranose) of [¹⁸F]-FDG. Acetylated-[¹⁸F]-FDG was pushed with high purity nitrogen and the intermediates (acetylated-[¹⁸F]-FDG) captured by Sep-Pak[®] C18 extraction column. NaOH hydrolysis the intermediate carried by C-18 column, after purification, sterilization and eventually get [¹⁸F]-FDG injection. The radiochemical purity (RCP) of the synthesized products was detected by TLC. PET-CT scan of [¹⁸F]-FDG tumor patient was carried out and confirmed by pathology. **Results** The RCP of [¹⁸F]-FDG is over 95%. 20 mg of trifluorocarbon can achieve an uncorrected synthetic efficiency of about 60%. **Conclusions** It is easily and steadily to automatically synthesis the tumor imaging agents [¹⁸F]-FDG by using ABX [¹⁸F]-FDG cassette with Explora One module. The synthesis time was short, stable and fast.

Key words: Positron-emission tomography and computed tomography; 3-O-Methylglucose; Solid phase extraction; Technology, pharmaceutical

正电子发射断层显像/X 射线断层扫描^[1] (positron emission tomography-computed tomography, PET-CT) 是 21 世纪核医学领域内最大的一个技术突破, 实现了解剖成像和功能成像合并一体。

2-[¹⁸F]-2-脱氧-β-D-葡萄糖^[2] 简称 [¹⁸F]-FDG 是目前广谱的 PET-CT 肿瘤探针, 占 PET-CT 示踪剂在临床应用的 95% 以上, 因此被称为 PET-CT 示踪剂的“战马”, 常规的肿瘤显像剂 [¹⁸F]-FDG 的需求

量越来越多, 因此国内外各大企业研发了很多可以制备 [¹⁸F]-FDG 的合成模块^[3]。考虑到 [¹⁸F]-FDG 的半衰期只有 109.8 min, 因此提高合成放化产率, 成为各种合成模块制备 [¹⁸F]-FDG 的重要指标。本研究基于安徽省立医院 PET-CT 中心全自动氟 18 标记多功能模块 (Explora One) 化学合成模块平台使用固相萃取的方法, 全自动合成 [¹⁸F]-FDG 注射剂, 并用于临床各种肿瘤患者的 PET-CT 检查, 初步探讨影响合成的因素。

1 资料与方法

1.1 临床资料 利用 Explora One 固相萃取法合成

[^{18}F]-FDG 注射液分别应用在 2014 年 1 月至 2016 年 12 月期间在安徽省立医院检查的患者 15 例,其中男性 9 例,女性 6 例,良性病变 3 例,恶性病变 12 例,年龄(62.33 ± 12.18)岁,年龄范围 50 ~ 86 岁,所有受研究对象均在签署知情同意书、符合医学伦理学相关要求下进行全身 PET-CT 检查

1.2 仪器设备及合成试剂

1.2.1 仪器设备 医用回旋加速器 型号:Eclipse RD,德国 Siemens 公司;化学合成模块 型号:Explora One,德国 Siemens 公司;薄层色谱分析(TLC)系统,美国 Bio scan 公司;高效液相分析(HPLC)系统,美国安捷伦公司;放射性检测仪,美国 Bio scan 公司;活度计 型号:CRC-25PET,美国 Capintec 公司。

1.2.2 合成试剂 H_2^{18}O 丰度:97%,美国剑桥公司; [^{18}F]-FDG 合成卡套(内含:[^{18}F]-FDG 合成前体即三氟甘露糖, [^{18}F]-FDG 合成卡套配件, QMA 柱(含 QMA 柱收集漏斗)、C-18 柱(一个纯化柱,一个萃取柱)、Alu 柱,无水乙腈, TBA- HCO_3 洗脱液, 30 mL 规格的 BD 注射器, 1 M 氢氧化钠。灭菌注射用水,石家庄四药有限公司,其它普通试剂均为国产分析纯。

1.3 Explora One 化学模块碱水解方法合成

1.3.1 [$^{18}\text{F}^-$]的生产 通过 $^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$ 核反应, 60 μA 束流连续轰击 H_2^{18}O 60 min,得到 $2\,000 \times 37$ MBq 的 [$^{18}\text{F}^-$];

1.3.2 [$^{18}\text{F}^-$]的捕获 将传输过来的 [$^{18}\text{F}^-$] 传输进入 QMA 柱上方漏斗装置,通过高纯氮气将 [$^{18}\text{F}^-$] 压入 QMA 柱;

1.3.3 [$^{18}\text{F}^-$]的洗脱 TBA- HCO_3 混合溶液(季铵盐)溶液将吸附 QMA [$^{18}\text{F}^-$] 洗脱入反应管反应体系除水加热,共沸蒸发除水,再次加入 3 mL 无水乙腈并再次蒸干反应管;

1.3.4 [^{18}F]-FDG 前体标记 三氟甘露糖的乙腈溶液(分为 10 mg、15 mg、20 mg、30 mg 每个前体量重复 3 次) 2.5 mL 至反应瓶,90 $^\circ\text{C}$ 标记,加热蒸干反应体系乙腈,生成乙酰化 [^{18}F]-FDG,乙酰化 [^{18}F]-FDG 通过 30 mL BD 注射器抽吸反应管乙酰化 [^{18}F]-FDG 内容物,传输到 C-18(萃取柱)上,氮气吹干萃取柱;

1.3.5 [^{18}F]-FDG 的碱水解 将 2 mL 氢氧化钠推入挂有乙酰化 [^{18}F]-FDG C-18 萃取柱上,常温下去除乙酰保护基团,生成有杂质的终产物 [^{18}F]-FDG;

1.3.6 [^{18}F]-FDG 纯化/除菌 依次通过 Alu 柱/C-18 柱,除去体系中的 K₂CO₃、水解化合物、非极性化合物、调节 pH 值,吸附游离的 [$^{18}\text{F}^-$],用 10 mL 灭菌注射用水淋洗纯化柱,最后产品通过孔径为 0.22 μm 的灭菌过滤器洗脱出 [^{18}F]-FDG 进入最终产物瓶, [^{18}F]-FDG 注射液全部制备完毕。

1.4 [^{18}F]-FDG 化学合成路线 见图 1。

1.5 [^{18}F]-FDG 的质量控制 ① 外观 [^{18}F]-FDG 注射液有无浑浊;② pH 值测定 pH 值试纸测定;③ [^{18}F]-FDG 的放射化学纯度测定 展开剂:90% 乙腈溶剂,薄层色谱仪检测放化纯;④ 无菌和内毒素测定,送检本院检验科;

1.6 肿瘤患者 PET-CT 显像 建立静脉(肘静脉或者手背浅静脉)通道,注射 [^{18}F]-FDG ($0.1 \sim 0.15$) $\times 37$ MBq $\cdot \text{kg}^{-1}$,注射 [^{18}F]-FDG 40 min 后显像,三维采集重建图像,得到 PET、CT 以及 PET-CT 融合图像。

1.7 统计学方法 统计软件为 SPSS 19.0,所有计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 [^{18}F]-FDG 注射液 (1) 外观呈现澄清、透明、无混浊沉淀。(2) [^{18}F]-FDG 注射液的 pH 值为 7 ~ 8 之间,符合示踪剂注射用要求。(3) 利用西门子 Explora One 合成器进行全自动 [^{18}F]-FDG 的合成,合成时间(23.50 ± 0.53) min,未校正合成效率为(60 ± 4)%,放化纯度(97.2 ± 1.6)%,用此合成器合成出的 [^{18}F]-FDG 放射化学纯度的薄层色谱图(图 2)显示最终产物 [^{18}F]-FDG 保留时间为 0.503 min, [$^{18}\text{F}^-$] 在 0.073 min。(4) 无菌实验结果表明 [^{18}F]-FDG 注射液 无菌落和真菌生长,内毒素含量均小于 15 EU $\cdot \text{mL}^{-1}$ 。(5) 不同剂量三氟甘露糖前体对于合成 [^{18}F]-FDG 的放化合成效率的影响,见图 3。10 mg 前体合成效率为(37.9 ± 1.5)%, 15 mg 前体合成效率为(47.5 ± 2.7)%, 20 mg 前体合成效率为(61.4 ± 2.1)%, 30 mg 前体效

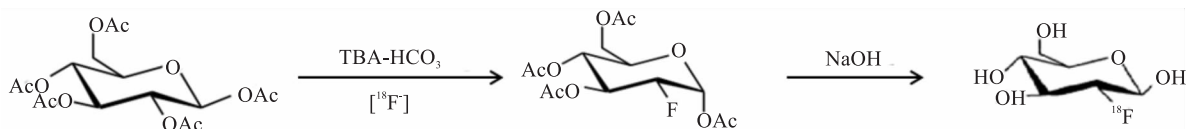
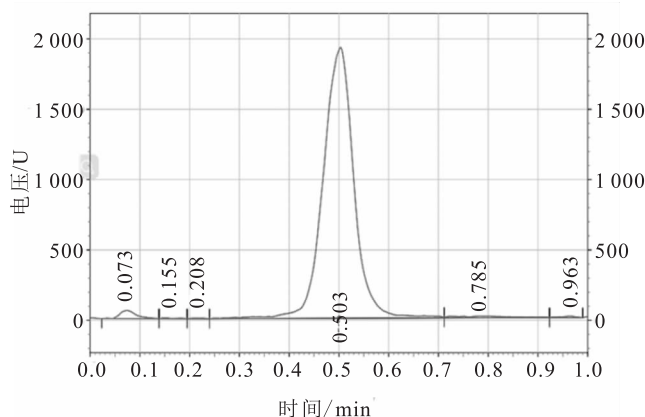


图1 [^{18}F]-FDG 化学合成路线:[^{18}F]与三氟甘露糖标记之后,氢氧化钠水解乙酰基团,生成 [^{18}F]-FDG

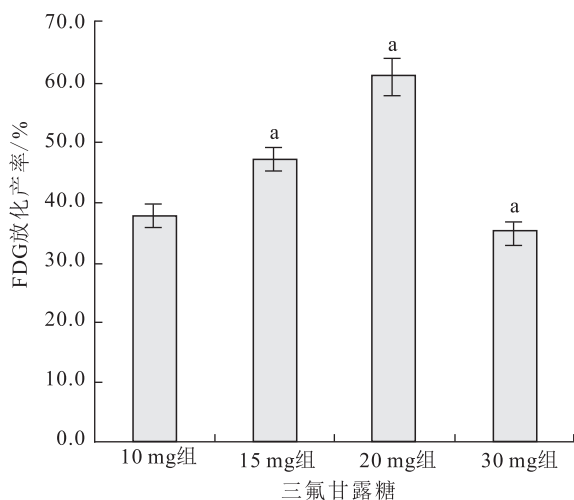
率为 $(35.4 \pm 1.7)\%$, 三氟甘露糖为 20 mg 合成效率为最佳(15 mg、20 mg、30 mg 剂量组均与 10 mg 剂量组进行对比, 分别为 $t_1 = 5.383, P_1 = 0.006; t_2 = 15.772, P_2 < 0.001; t_3 = -1.910, P_3 = 0.120$)。



注:随机抽样产品放化纯为 97.08%

图2 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 放射化学薄层色谱图

2.2 典型案例 在研究对象中,抽取一名患者进行 PET-CT 检查,男,86 岁, PET-CT 融合显像显示 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 在食管有高代谢摄取,提示 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 可以作为—种良好的肿瘤显像剂,见图 4。



注:与 10 mg 组比较, $^a P < 0.001$

图3 三氟甘露糖含量对 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 未校正合成效率的影响

3 讨论

$[^{18}\text{F}]$ -FDG 是目前临床上最常用的 PET-CT 探针^[4], $[^{18}\text{F}]$ -FDG 通过进入细胞,富集在细胞内。而大部分肿瘤细胞消耗能量相比正常细胞要多, $[^{18}\text{F}]$ -FDG 在肿瘤细胞内浓聚,因此 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 像反映葡萄糖代谢的一种 PET-CT 探针。 $[^{18}\text{F}]$ -FDG, 在肿瘤的良好鉴别方面得到了广泛的应用。

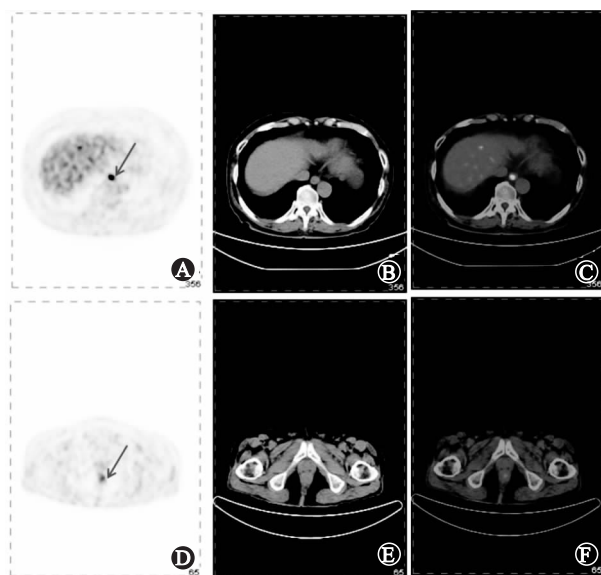


图4 静脉注射 $[^{18}\text{F}]$ -FDG $7 \times 37 \text{ Bq}$ 后 PET-CT 融合显像提示该患者患食管癌、痔疮:A 图为 PET 显示食道下段结节状 FDG 代谢摄取异常增高灶(箭头处),SUV 最大值 8.3;B 图为 CT 显示食道下段食管壁环形增厚,最厚约 10mm,管腔变窄;C 图为 PET-CT 融合图像提示食道下段恶性病变;D 图为同一患者 PET 显示直肠末段结节状 FDG 代谢摄取增高灶(箭头处),SUV 最大值 4.1;E 图为同机 CT 示该部位形态及密度未见明显异常;F 图为 PET-CT 融合图像提示该部位活性病灶,结合临床及病史考虑该处为痔疮病灶炎性摄取而非恶性病变

上个世纪 70 年代 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 在美国首次合成,通过 $^{20}\text{Ne}(\text{d}, \alpha)^{18}\text{F}$ 核反应生产 $[^{18}\text{F}]^-$,用 $[^{18}\text{F}]$ -F2 进行 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 制备的居多^[5]。合成过程久而合成效率只有 8% 左右。后来研究改进 $[^{18}\text{F}]^-$ 的生产方法,通过 $^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$ 核反应成 $[^{18}\text{F}]^-$ 。因此不断探索合成工艺,去除影响合成 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 的影响因素,成为制备 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 的重要环节。

Hamacher 研究团队^[6]在 1986 使用三氟甘露糖为合成 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 的经典前体亦使用至今。本研究使用氢氧化钠碱性环境,常温,固相萃取,并探索不同三氟甘露糖的含量对于 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 产率影响。三氟甘露糖的量为 20 mg 合成 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 可以获得最佳合成效率 $(61.4 \pm 2.1)\%$ ($P \leq 0.01$)。范文博^[7]等采用碱性液相水解也考量了三氟甘露糖作为前体添加量对于制备 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 的影响,随着三氟甘露糖从 5 mg 增加到 25 mg 未校正合成效率逐步增加,三氟甘露糖的量为 20 mg 合成 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 获得未校正合成效率 $(59.0 \pm 2.3)\%$,与本研究结果类似。有研究^[8]使用 TRACERlab FX-FN 全自动合成器在柱碱性水解法合成 $[^{18}\text{F}]$ -FDG,其合成工艺与本研究一致,在添加 18 mg 三氟甘露糖的时候获得未校

正合成效率 60%,罗磊等研究者的结果提示当前体含量达到 18 mg 时,可获得较好的合成效率。李海峰^[9]等采用酸性液相法合成工艺合成 $[^{18}\text{F}]$ -FDG,采用三氟甘露糖的前体量均为 19 mg,获得未校正合成效率为 $(60.27 \pm 2.29)\%$ 。范文博^[7]、罗磊^[8]、李海峰^[9]等与本研究当三氟甘露糖添加量在 20 mg 左右均可以获得较好的未校正合成效率 60% 左右。本研究发现当前体 30 mg 时,未校正合成效率为 $(30.4 \pm 1.7)\%$,其原因可能与产生消除副反应相关。有研究^[10]发现当三氟甘露糖前体量比较多,浓度过高,会出现中间体转移困难,合成效率降低可能和出现消除反应相关,也证实了本研究的结果。三氟甘露糖对保存条件比较苛刻,最佳储存温度是 4℃ 左右进行保存,如果不是冷链运输,三氟甘露糖容易变质、影响着 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 的产率高低。亲核取代最关键是 $[^{18}\text{F}]^-$ 标记的体系中不能有水,三氟甘露糖亲水性能是亲氟的很多倍,本研究使用 ABX 一次性卡套,隔离了反应体系和外周环境,保证无水状态,使得反应产率得以提高。本研究基于 Explora One 化学合成模块,碱性/固相萃取进行 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 制备($P < 0.05$)。碱水解的优势在于碱与极低浓度的中间体几乎无副反应^[7]酸水解除去中间产物的乙酰基基团,虽然拥有没有消除反应的优势,但是酸水解时间久,反应温度很高;碱水解的缺点是有可能会产生消除反应。张锦明等^[11]研究了不同方法不同浓度碱水解中间体的方法,比较了液相碱水解固相碱水解的优缺点,结果表明,液相碱水解,由于加入碱的量少而使中间体不足以完全溶解造成中间体的损失;同时,液相碱水解需要蒸干乙腈,放射性损失 15% 左右。而固相水解采用将碱慢慢加入固相柱上水解中间体的方法,减少了蒸发乙腈带走的放射性损失。

综上所述 Explora One 固相萃取/碱性水解方式从合成工艺上优于国内报道的很多模块^[12],全自动

制备,保护了操作人员免于放射性射线损伤,基于 Explora One 化学合成模块式合成肿瘤显像剂 2- $[^{18}\text{F}]$ -2-脱氧- β -D-葡萄糖放化纯度高,可以为临床诊疗提供高质量示踪剂。

参考文献

- [1] CICONI F, GALLDIKS N, MINNITI G, et al. Comment on Hatzoglou et al: Dynamic contrast-enhanced MRI perfusion versus 18FDG PET/CT in differentiating brain tumor progression from radiation injury[J]. Neuro Oncol, 2017, 19(2):300-301.
- [2] 郑永明, 张红雨. 2 次合成 18F-FDG 时不同分组方法所需量的理论研究[J]. 医疗卫生装备, 2016, 37(4):94-96.
- [3] 孙传金, 朱虹, 方可元, 等. 18 氟-脱氧葡萄糖合成失败原因分析[J]. 医学研究生学报, 2013, 26(1):23-25.
- [4] 刘飞, 汪世存, 潘博, 等. 18F-FDG PET-CT 显像在恶性纤维组织细胞瘤术后局部复发及转移监测中的应用[J]. 安徽医药, 2015, 19(2):292-295.
- [5] FEWLER JS, IDO T. Initial and subsequent approach for the synthesis of 18FDG[J]. Semin Nucl Med, 2002, 32(1):6-12.
- [6] HAMACHER K, COENEN HH, STÖCKLIN G. Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2- $[^{18}\text{F}]$ -fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution[J]. J Nucl Med, 1986, 27(2):235-238.
- [7] 范文博, 彭添兴, 颜和平. 2-18F-2-脱氧- β -D-葡萄糖的自动化合成研究[J]. 应用化工, 2008, 37(12):1462-1464.
- [8] 罗磊, 唐刚华, 唐小兰. 在柱水解法自动化合成 2- ^{18}F -脱氧-D-葡萄糖[J]. 中南大学学报(医学版), 2009, 34(11):1151-1156.
- [9] 李海峰, 张晓军, 李云钢, 等. 国产模块酸水解全自动化合成 ^{18}F -FDG[J]. 核技术, 2016, 39(8):20-25.
- [10] 孙伟张, 蒋长青, 郭正奎. 国产 PET-FDG-IT-II 型模块合成 ^{18}F -FDG 影响因素分析[J]. 中国医疗设备, 2010, 25(1):93-94.
- [11] 张锦明, 田嘉禾, 宣定才, 等. 固相萃取柱上水解法合成 ^{18}F -FDG[J]. 同位素, 2003, 16(3/4):222-225.
- [12] 陈礼平, 张雨, 万卫星. 国产 PET- ^{18}F -FDG-IT-N 四合一模块合成 18F-氟代脱氧葡萄糖问题分折[J]. 中国医学装备, 2013, 10(1):26-28.

(收稿日期:2017-09-28,修回日期:2018-04-27)

◇ 编读往来 ◇

《安徽医药》杂志有关文稿中法定计量单位的书写要求

本刊法定计量单位具体使用参照 1991 年中华医学会编辑出版部编辑的《法定计量单位在医学上的应用》一书。注意单位名称与单位符号不可混合使用,如 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$ 应改为 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$;组合单位符号中表示相除的斜线多于 1 条时,应采用负数幂的形式表示,如 ng/kg/min 应采用 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的形式;组合单位中斜线和负数幂亦不可混用,如前例不宜采用 $\text{ng/kg} \cdot \text{min}^{-1}$ 的形式。对于实践中仍沿用的非法定计量单位首次出现处用括号加注与旧制单位的换算系数,下文再出现时只列法定计量单位。