

氨基酸代谢 PET-CT 探针 L -[S- ^{11}C -甲基]-蛋氨酸的全自动合成及质量控制

谢强,汪世存

(安徽省立医院 PET-CT 中心,安徽 合肥 230001)

摘要:目的 研究氨基酸代谢显像剂 L -[S- ^{11}C -甲基]-蛋氨酸(^{11}C]-MET)全自动合成、质量控制以及影响因素。方法 运用医用回旋加速器轰击氮氧混合气体,生产出的 $^{11}\text{C}^-$ 与 57% 氢碘酸生成 ^{11}C]-碘代甲烷,高纯氮气推动 ^{11}C]-碘代甲烷与 ^{11}C]-MET前体 L -高胱氨酸硫内酯反应,生成 ^{11}C]-MET,经纯化,灭菌最终得到 ^{11}C]-MET 注射液。薄层色谱法对 ^{11}C]-MET 进行放射化学纯度(RCP)检测。肿瘤患者行 ^{11}C]-MET PET-CT 扫描。结果 最终合成产物 ^{11}C]-MET 的 RCP>95%,3 mg 的 L -高胱氨酸硫内酯可获得未校正合成效率约为 35%。结论 使用国产碳-11 碘代甲烷合成模块以及碳-11 多功能合成模块的组成化学合成模块实现液相法转移 $^{11}\text{C}^-$ 两步法合成 ^{11}C]-MET,合成时间短,合成稳定。

关键词:正电子发射断层显像/X 射线断层扫描;氢碘酸; L -高胱氨酸硫内酯; ^{11}C]-蛋氨酸

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.07.039

Automatic synthesis and quality control of amino acid metabolism PET-CT probe L -[S- ^{11}C -methyl] methionine

XIE Qiang, WANG Shicun

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

Abstract: Objective The present study aims to discuss the method for automatic produce, quality control of amino acid metabolism imaging agent L -[S- ^{11}C -methyl] methionine (^{11}C]-MET) and the related factors. **Methods** Medical cyclotron firstly produced $^{11}\text{C}^-$ by bombarding gas mixture of oxygen and nitrogen, and then interacted with 57 % hydriodic acid to produce ^{11}C]-CH₃I. High purity of nitrogen promoted ^{11}C]-CH₃I interacting with the precursor ^{11}C]-MET L -homocysteine thiolactone to generate ^{11}C]-MET. After purification and sterilization, we finally got ^{11}C]-MET injection. The radiochemical purity (RCP) of ^{11}C]-MET was detected by thin-layer chromatography (TLC). Patients with tumors underwent ^{11}C]-MET PET-CT scan. **Results** The RCP of ^{11}C]-MET is more than 97%. Three milligram of L -homocysteine thiolactone obtained an uncorrected synthetic efficiency about 35%. **Conclusion** The method to automatically generate ^{11}C]-MET was easy, by which the time was short, and the method was stable.

Key words: Positron emission tomography-computed tomography; Hydriodic acid; L -homocysteine thiolactone; ^{11}C]-MET

常规的正电子发射断层显像/X 射线断层扫描^[1] (positron emission tomography-computed tomography, PET-CT) 泛指 ^{18}F]-FDG 的 PET-CT 扫描。 ^{18}F]-FDG 是临床最常见的肿瘤显像剂,在肿瘤分期、良恶性鉴别、寻找原发灶等方面在临床被广泛应用。 ^{18}F]-FDG 是葡萄糖代谢显像剂,可以反映细胞的能量代谢,鉴于与葡萄糖化学结构类似,在肿瘤细胞内异常浓聚。正因为如此, ^{18}F]-FDG 的 PET-CT 显像存在固有的缺陷,生理情况下脑组织需葡萄糖量比较大, ^{18}F]-FDG 又通过泌尿系统进行

代谢,因此 ^{18}F]-FDG 在脑组织、膀胱中的本底较高,限制了 ^{18}F]-FDG 在中枢神经系统以及泌尿系统疾病中的应用。 ^{11}C]-MET 是氨基酸代谢显像剂,能反映氨基酸的转运和代谢,在颅脑的本底较低,因此弥补了 ^{18}F]-FDG 显像的不足^[2]。本研究基于安徽省立医院 PET-CT 中心 PET-CS-II-IT-I 型碳-11 碘代甲烷合成模块、PET-CS-I-IT-I 型碳-11 多功能合成模块组成的碳-11 显像剂化学合成模块两步法,采用“二合一”合成工艺合成 ^{11}C]-MET 注射液,并用于临床中枢神经系统肿瘤患者的 PET-CT 检查,并初步探讨其质控方法。

1 材料与方法

1.1 临床资料 2009 年 2 月至 2011 年 5 月安徽省立医院住院患者,36 例,其中男 26 例,女 10 例;胶质瘤术前检查 12 例,胶质瘤术后、放疗后复查 22

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81501187),安徽省自然科学基金青年项目(1508085QH173)

通信作者:汪世存,男,主任医师,硕士生导师,研究方向为肿瘤分子影像,E-mail: wangsc3329@163.com

例,脑转移瘤放疗后复查2例(良性病变16例,恶性病变20例),年龄(40.42 ± 14.56)岁,年龄范围为7~78岁,所有受研究对象均经过安徽省立医院伦理委员会审核通过并签署患者知情同意书进行全身PET-CT检查。

1.2 仪器设备及合成试剂 (1) 仪器设备。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:PET-CS-II-IT-I 型碳-11 碘代甲烷合成模块、PET-CS-I-IT-I 型碳-11 多功能合成模块,北京派特生物科技公司;薄层色谱分析(TLC)系统,美国 Bioscan 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。(2) 试剂。合成试剂 *L*-高胱氨酸硫内酯,德国 ABX 公司;57% 氢碘酸,美国 Sigma 公司;氢化锂铝四氢呋喃溶液,德国 ABX 公司;五氧化二磷、固体氢氧化钠、无水乙醇均为国产试剂;C-18 柱,美国 Waters 公司;无菌过滤器,美国 Millipore 公司;10 ml 和 30 ml 无菌真空瓶,北京派特生物技术有限公司;灭菌注射用水,石家庄四药有限公司,0.05 mol · L⁻¹ 磷酸钠溶液、1 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液均为自己配置试剂。

1.3 国产模块液相两步法合成 [¹¹C]-MET (1) [¹¹C⁻] 的生产。11 MeV 回旋加速器通过¹⁴N (p, α)¹¹C 核反应,40 μA 束流连续轰击靶材料为:0.5% 氧的氮 30 min,常规得到 1 000 mCi 的 [¹¹C]-CO₂,在靶体中等待传输。

(2) [¹¹C⁻] 的捕获。使用靶转换器将传输管路切换,使用氦气次序使用低气流、高气流将传输过来的 [¹¹C⁻] 传输进完全浸泡在液氮中的不锈钢 loop 环中, [¹¹C⁻] 遇到极低气温的 loop,立刻以干冰形态冻结在 loop 中,没有被捕获的 [¹¹C] 被收集在废气收集装置中。

(3) [¹¹C]-甲醇的生成。将液态氮气装置缓慢下降,浸泡在液氮中 loop 环受到环境温度的自然加温, [¹¹C]-CO₂ 从干冰状态通过长针头缓慢的释放进入装有 0.1~0.2 mL 氢化锂铝四氢呋喃溶液内密闭反应管之中,与氢化锂铝反应生成 [¹¹C]-甲醇。未反应的 [¹¹C]-CO₂ 由碱性柱吸附。

(4) [¹¹C]-碘代甲烷的生产。待 [¹¹C]-CO₂ 与氢化锂铝反应完毕,打开装载有氢碘酸注射器的阀门,缓慢推入 57% 氢碘酸,同时加热反应管至 120 ℃, [¹¹C]-甲醇与氢碘酸反应立刻生成的 [¹¹C]-碘代甲烷,借助反应管的高温,通入高纯氮气后被蒸

出并进入下一步反应。

(5) V-MET 的挂柱。 [¹¹C]-碘代甲烷通过自制的除水小柱(五氧化二磷、固体氢氧化钠填充的小柱)后与通过装载有 *L*-高胱氨酸硫内酯前体的 C-18 柱(预装方法:取适量等体积的无水乙醇和新鲜配制 1 mol · L⁻¹ NaOH 溶液混合;用 1 mL 注射器抽取混合溶液 0.2 mL 溶解 3 mg 前体;把溶有前体的 0.2 mL 混合溶液加载 C-18 柱里),与柱上前体反应,生成的 [¹¹C]-MET 挂在 C-18 柱上。

(6) [¹¹C]-MET 的洗脱/除菌。取 0.05 mol · L⁻¹ 磷酸钠淋洗挂有 [¹¹C]-MET 的 C-18 柱,经过乙醇预处理的另一只 C-18 柱子,最后产品通过孔径为 0.22 μm 的灭菌过滤器,洗脱出 [¹¹C]-MET 进入最终产物瓶, [¹¹C]-MET 注射液全部制备完毕。(预处理 C-18 柱的准备:在产品出口端接上一只经 5 mL 乙醇活化处理过的 C-18 柱、无菌滤膜和最终产物瓶)

1.4 [¹¹C]-MET 化学合成路线 见图 1。

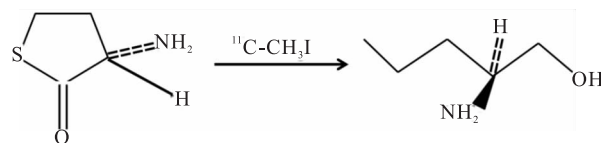


图1 *L*-高胱氨酸硫内酯与碘代甲烷反应生成 [¹¹C]-MET

1.5 [¹¹C]-MET 注射液质量控制 (1) 形态外观:透过肉眼观察注射液是否澄清、无颗粒、无絮状物;(2) pH 值测定:使用精密 pH 试纸(杭州特种纸业有限公司)测定;(3) 放射化学纯度测定:采用薄层色谱法用毛细玻璃管吸取少量产品在预先准备好的硅胶板上点样,使用展开剂为 V(CH₃OH):V(CHCl₃):V(NH₄OH)=8:8:4 溶剂,将硅胶板放入盛有展开剂的展开试管中,注意观察展开剂展开产品快接近硅胶板末端的时候取出,用薄层色谱仪(型号:MINI-SCAN)检测 [¹¹C]-MET 放射化学纯度;(4) 无菌和内毒素测定:合成批次的 [¹¹C]-MET 注射液送检本院检验科。

1.6 肿瘤患者 PET-CT 显像 通过浅静脉,注射 0.2 mCi~0.25 mCi · kg⁻¹ [¹¹C]-MET,20 min 后显像,三维采集重建图像。

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

2 结果

2.1 [¹¹C]-MET 注射液的一般参数 (1) [¹¹C]-MET 注射液外观呈现澄清、透明、无混浊沉淀;(2)

[^{11}C]-MET 注射液的 pH 值为 7~8 之间,符合示踪剂注射用要求;(3) [^{11}C]-MET 放化纯度 >98%,保留时间为 0.697 min(图 2)。

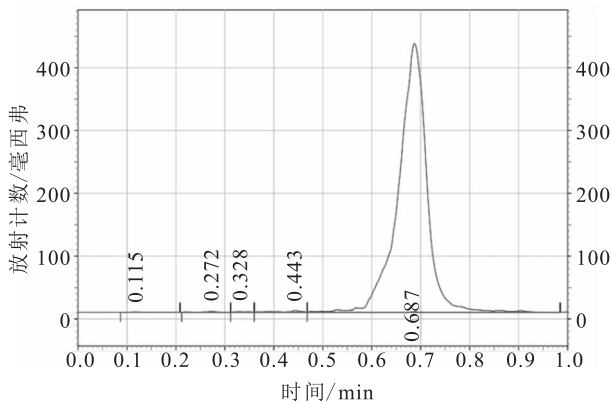


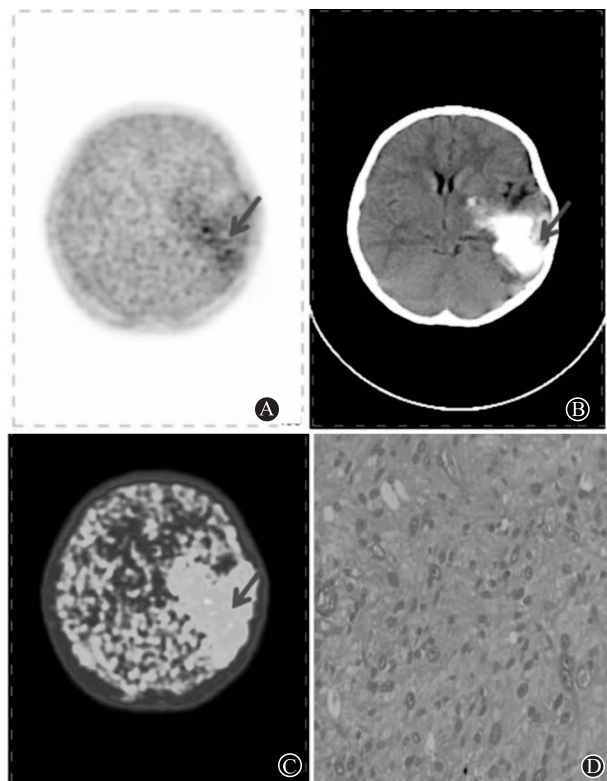
图 2 [^{11}C]-MET 的薄层色谱图

2.2 无菌内毒素测定结果 无菌内毒素测定结果表明: [^{11}C]-MET 注射液无菌落生长,内毒素含量均小于 $15 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3 36 例患者 [^{11}C]-MET PET-CT 检查结果 12 例胶质瘤术前检查者呈高代谢者 9 例, SUV (Standard Uptake Value, 标准化摄取值) 最大值范围 1.1~7.7 (典型病例参见图 3), 呈低代谢者 3 例; 22 例胶质瘤术后、放疗后复查者呈术区环形、团块状高代谢者 17 例, SUV 最大值范围 1.8~5.3, 提示病灶仍有活性, 考虑复发或转移, 呈低代谢者 5 例, 提示术后、放疗后病灶无活性; 2 例脑转移瘤放疗后复查患者 1 例术区呈低代谢改变, 提示病灶无活性, 1 例呈环形高代谢, 提示病灶仍有活性。

3 讨论

[^{18}F]-FDG 是葡萄糖类似物, 在细胞内转化成 [^{18}F]-FDG-6-磷酸盐不能被细胞代谢掉, 浓聚于细胞, 因此 [^{18}F]-FDG 作为一种 PET-CT 探针被广泛应用^[4]。中枢神经系统生理性耗能, 造成 [^{18}F]-FDG 脑生理性摄取, 脑部摄取的本底较高。鉴于 [^{11}C]-MET 脑部本底摄取低作为中枢神经系统疾病的显像剂存在先天优势。采用国产模块全自动一体化“两步法”合成 [^{11}C]-蛋氨酸^[3]。合成采用单管液相反应的方法, 最大程度减少了放射性的转移, 提高产物的合成效率; 合成时间和温度可以根据需要随意设置; 合成时间短, 合成成本低, 操作简单, 合成出来的 [^{11}C]-碘代甲烷可直接进入下一步反应。合成反应的第一步先生成 [^{11}C]-碘代甲烷, [^{11}C]-碘代甲烷进入碳-11 多功能合成模块, 通过监测和控制在线柱, 启动碳-11 多功能合成模块合成程序,



注: 男, 43 岁, 静脉注射 [^{11}C]-MET 20 mCi。A 示 PET 显示大脑左侧额叶、基底节区团块状 [^{11}C]-MET 代谢增高灶 (箭头处), SUV 最大值 2.8, B 示同机 CT 示病灶伴有大片状高密度钙化, C 示 PET-CT 融合图像提示患者脑部恶性病变, D 示病理 (HE 染色 $\times 100$) 证实为高级别胶质瘤 (WHO III~IV 级)

图 3 某患者 PET-CT 融合显像片

[^{11}C]-碘代甲烷标记到 C-18 柱子上面的 L-高胱氨酸硫内酯, 生成 [^{11}C]-蛋氨酸, 对 [^{11}C]-蛋氨酸进行纯化, 洗脱灭菌后得到 [^{11}C]-蛋氨酸注射液。本法的优势在于使用液相法合成碘代甲烷, 避免了碘升华法超高温, 高密封性带来的合成困难, 有学者^[4]使用美国通用的 TRACERlab FX-C 化学模块镍催化气相捕获反应方法合成碘代甲烷。本法采用氢化锂铝作为还原剂的液相反应方法, 鉴于氢化锂铝活性高、还原性强不易控制, 因此液相合成存在一定的局限。本法采用 C-18 上填充 L-高胱氨酸硫内酯, 碘代甲烷与前体在柱反应, 无需高效液相色谱^[5] (HPLC) 纯化, 只不过是 Al₂O₃ 柱子上填充 L-同型半胱氨酸硫醇酯即为 L-高胱氨酸硫内酯。未校正合成效率为 $21.2\% \pm 7.9\%$, 放射化学纯度为 >99%。

各种碳 11 和氟 18 标记的氨基酸显像剂的研发已经应用于 PET 之中^[6]。大多数脑瘤患者氨基酸吸收的比例比正常的大脑要多很多。这些氨基酸包括天然氨基酸如 L-[^{11}C]-亮氨酸, L-[^{11}C]-蛋氨酸,

和 L - $[^{11}\text{C}]$ -酪氨酸和非天然的氨基酸如 $[^{11}\text{C}]$ -氨基异丁酸, $[^{11}\text{C}]$ -环戊胺-1-羧酸等,在肿瘤学成像中也有 ^{123}I 标记的氨基酸显像剂^[7-10]。约 20 个氨基酸转运系统已确定。大部分的氨基酸是由通过能量非依赖氨基酸 L 型转运系统和 Na^+ 依赖转运系统 A 还有 B 系统进行转运氨基酸。肿瘤细胞氨基酸需求高于正常细胞,因此氨基酸代谢显像剂在肿瘤细胞内浓聚。肿瘤细胞被发现过度表达氨基酸转运系统。 $[^{11}\text{C}]$ -蛋氨酸, $[^{11}\text{C}]$ -酪氨酸, $[^{18}\text{F}]$ -酪氨酸等已经广泛应用于检测肿瘤,它们被各种氨基酸转运蛋白转移到细胞中,并被参与蛋白质合成中。在蛋白质中加入的放射性氨基酸的比例通常比在细胞中吸收的总量要小。这些天然氨基酸图像是基于氨基酸运输和蛋白质结合的。 $[^{11}\text{C}]$ 已广泛应用于脑、头、颈、肺、乳腺癌及淋巴瘤的检测。它可以穿过血脑屏障。它主要被纳入蛋白质,但也被纳入脂质、RNA 和 DNA。 $[^{11}\text{C}]$ 与 $[^{18}\text{F}]$ -FDG^[11]相比,PET 成像对放疗更敏感,对于监测癌症的治疗很有用。

$[^{11}\text{C}]$ -MET 属于氨基酸类显像剂。在 $[^{11}\text{C}]$ -MET 参与蛋白质的合成或转化为 S-腺苷蛋氨酸作为机体甲基的供体。 $[^{11}\text{C}]$ -MET 在胶质瘤中浓聚可能与肿瘤细胞蛋白质合成增加、血脑屏障破坏及血管密度增加有关。闫文明等^[3]应用 $[^{11}\text{C}]$ -MET-PET/CT 诊断脑胶质瘤放疗后肿瘤复发和放射性坏死的灵敏度为 92.0%, 特异度为 83.33%, 准确性为 94.29%, 约登指数为 0.753, 在脑胶质瘤放疗后区分肿瘤复发和放射性脑坏死方面敏感性和准确性均较高,且较 MRI 更敏感和准确;与本研究实验结果吻合。 $[^{11}\text{C}]$ -MET 是在脑胶质瘤放疗指导方面应用最多的具有潜力的 PET 探针,勾画肿瘤界限与范围、评价治疗效果要优于 $[^{18}\text{F}]$ -FDG,但是在病理学分级 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 存在一定的优势,如 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 和 $[^{11}\text{C}]$ -MET 双探针显像,优势互补,可大幅度提高对中枢神经系统肿瘤的诊断准确性,和评估后续临床治疗。碳元素是人体组成元素, $[^{11}\text{C}]$ 标记的正电子药物有巨大很好的生物学相容性,尤其是 ^{11}C -MET 的广泛应用^[12-15],由于半衰期仅有 20 min 左右,限制其应用,在一定范围内仍可以弥补 $[^{18}\text{F}]$ -FDG 临床应用的不足。

参考文献

[1] 王硕,杜鹏,汤星星,等. ^{18}F -FDG PET 对睾丸生殖细胞肿瘤化疗后肿瘤残留的准确性判断[J]. 中国肿瘤临床,2017,44(12): 608-611.

[2] 陈泽龙,赵春雷,杨忠东,等. ^{11}C -MET 自动化合成及其在脑肿瘤显像中的应用价值[J]. 医疗卫生装备,2017,38(1): 75-77.

[3] 闫文明,白侠,王雪梅,等. ^{11}C -MET-PET/CT 检查在术后放疗脑胶质瘤患者肿瘤复发与放射性脑坏死鉴别诊断中的应用[J]. 山东医药,2016,56(27): 60-62.

[4] 彭添兴,范文博,颜和平. L - $[^{\text{S-}11}\text{C-甲基}]\text{-蛋氨酸}$ 的合成研究[J]. 化工文摘,2009(4): 28-29.

[5] MITTERHAUSER M, WADSAK W, KRCAL A, et al. New aspects on the preparation of $[^{11}\text{C}]$ Methionine--a simple and fast online approach without preparative HPLC[J]. Appl Radiat Isot, 2005, 62(3): 441-445.

[6] ITO K, SAKATA M, ODA K, et al. Comparison of dosimetry between PET/CT and PET alone using $(^{11}\text{C})\text{-ITMM}$ [J]. Australas Phys Eng Sci Med, 2016, 39(1): 177-186.

[7] DE ROSA V, IOMMELLI F, MONTI M, et al. Early ^{18}F -FDG uptake as a reliable imaging biomarker of T790M-mediated resistance but not MET amplification in non-small cell lung cancer treated with EGFR tyrosine kinase inhibitors [J]. EJNMMI Res, 2016, 6(1): 74.

[8] LÜCKERATH K, LAPA C, ALBERT C, et al. ^{11}C -Methionine-PET: a novel and sensitive tool for monitoring of early response to treatment in multiple myeloma [J]. Oncotarget, 2015, 6(10): 8418-8429.

[9] KOBAYASHI M, YAMASHITAK, TAKAORI-KONDO A. Clinical value of ^{18}F -FDG-PET and ^{11}C -MET-PET in patients with plasma cell malignancy[J]. Nihon Rinsho, 2015, 73(1): 74-79.

[10] LÜCKERATH K, LAPA C, SPAHMANN A, et al. Targeting para-protein biosynthesis for non-invasive characterization of myeloma biology[J]. PLoS ONE, 2013, 8(12): e84840. DOI: 10.1371/journal.pone.0084840.

[11] 刘飞,汪世存,潘博,等. ^{18}F -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.

[12] LIU Z, EHLERDING EB, CAI W, et al. One-step synthesis of an ^{18}F -labeled boron-derived methionine analog: a substitute for ^{11}C -methionine? [J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2018, 45(4): 582-584.

[13] DEUSCHL C, KIRCHNER J, POPEPPEL TD, et al. ^{11}C -MET PET/MRI for detection of recurrent glioma[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2018, 45(4): 593-601.

[14] DEUSCHL C, MOENNINGHOFF C, GOERICKE S, et al. Response assessment of bevacizumab therapy in GBM with integrated ^{11}C -MET-PET/MRI: a feasibility study[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2017, 44(8): 1285-1295.

[15] TRIKALINOS NA, NIHASHI T, EVANGELOU E, et al. Positron emission tomography (PET) for prediction of glioma histology: protocol for an individual-level data meta-analysis of test performance[J]. BMJ Open, 2018, 8(2): e020187. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-020187.