



^{18}F -T807在TRACERlab FX_{FN} 合成器上合成方法的优化及生物分布研究

左峰, 霍花, 王治国, 张国旭, 石庆学, 张宗鹏

Synthesis method optimization and biodistribution study of ^{18}F -T807 on TRACERlab FX_{FN} synthesizer

ZUO Feng, HUO Hua, WANG Zhiguo, ZHANG Guoxu, SHI Qingxue, ZHANG Zongpeng

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.1006-0111.202009023>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

托珠单抗对类风湿关节炎患者疗效、免疫球蛋白及辅助性T细胞水平的影响

Effects of tocilizumab on the efficacy, immunoglobulin and helper T cells in patients with rheumatoid arthritis

药学实践杂志. 2020, 38(1): 71-73,87 DOI: [10.3969/j.issn.1006-0111.201905023](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-0111.201905023)

$T > \text{MIC}\%$ 指导优化的哌拉西林/他唑巴坦抗菌方案对59例铜绿假单胞菌感染患者的临床观察

Clinical observation of piperacillin/tazobactam's optimized regimen formulated by $T > \text{MIC}\%$ for 59 patients with *P.aeruginosa* infection

药学实践杂志. 2017, 35(3): 262-266 DOI: [10.3969/j.issn.1006-0111.2017.03.017](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-0111.2017.03.017)

基于 $T > \text{MIC}$ 简易数学模型对二室模型的拓展适用性探讨美罗培南给药方案

Meropenem regimens based on the simple mathematical model of $T > \text{MIC}$ for two-compartment model

药学实践杂志. 2017, 35(4): 341-345 DOI: [10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.013](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.013)

SLCO1B1 521 T>C和APOE基因多态性对阿托伐他汀调脂疗效及安全性的影响

Effects of SLCO1B1 521 T>C and APOE gene polymorphisms on lipid-lowering efficacy and adverse reactions of atorvastatin

药学实践杂志. 2021, 39(3): 245-248 DOI: [10.12206/j.issn.1006-0111.202012013](https://doi.org/10.12206/j.issn.1006-0111.202012013)

1位芳基取代的青藤碱衍生物的合成和抗炎活性研究

Synthesis and anti-inflammatory activity of position 1 substituted sinomenine derivatives

药学实践杂志. 2018, 36(5): 417-421 DOI: [10.3969/j.issn.1006-0111.2018.05.007](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-0111.2018.05.007)

银连祛风汤治疗慢性荨麻疹的疗效观察及其对IgE和T细胞亚群水平的影响

Effects of Yinlian Qufeng decoction on chronic urticaria and the level of IgE and T cell subsets

药学实践杂志. 2021, 39(1): 82-85, 93 DOI: [10.12206/j.issn.1006-0111.202003107](https://doi.org/10.12206/j.issn.1006-0111.202003107)



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

^{18}F -T807 在 TRACERlab FX_{FN} 合成器上合成方法的优化及生物分布研究

左峰^a, 霍花^b, 王治国^a, 张国旭^a, 石庆学^a, 张宗鹏^a (北部战区总医院: a. 核医学科, b. 药物临床试验机构办公室, 辽宁沈阳 110840)

[摘要] 目的 优化 ^{18}F -T807的合成方法,并进行初步生物分布研究。方法 使用 TRACERlab FX_{FN} 合成器,以 BOC(t-Butyloxy carbonyl)保护的 ^{18}F -T807 前体 NPPI-9 为起始原料,改进实验条件进行合成,进行质量控制分析和 Wistar 大鼠生物分布研究。结果 改进合成条件合成产率由 (20.5±6.1)% 提高到 (25.7±5.8)%,质控符合标准,Wistar 大鼠肾、肝、血分布较高,在脑、心、肺摄取最低。结论 使用改进一锅法合成 ^{18}F -T807 简便易行,产率高,可以满足科研与临床的需求。

[关键词] T807; tau 蛋白; 正电子药物; 正电子发射扫描

[中图分类号] R981 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2021)06-0525-04

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202009023

Synthesis method optimization and biodistribution study of ^{18}F -T807 on TRACERlab FX_{FN} synthesizer

ZUO Feng^a, HUO Hua^b, WANG Zhiguo^a, ZHANG Guoxu^a, SHI Qingxue^a, ZHANG Zongpeng^a (a. Department of Nuclear Medicine, b. Institute of Drug Clinical Trial, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110840, China)

[Abstract] **Objective** To optimize the synthesis method of ^{18}F -T807 and study preliminary biodistribution. **Methods** ^{18}F -T807 was synthesized using an optimized method in TRACERlab FX_{FN} synthesizer with a t-BOC(t-Butyloxy carbonyl)-protected ^{18}F -T807 precursor NPPI-9 as starting material, improving experimental conditions for synthesis, then QC and biodistribution study in Wistar rats conducted. **Results** The improved synthesis conditions increased the synthesis yield from 20.5%±6.1% to 25.7%±5.8%. QC met the standard. Wistar rats had higher intake in kidney, liver, blood and lowest intake in brain, heart, lung. **Conclusion** The optimized synthesis method to synthesize ^{18}F -T807 is simple and easy, and high yield, which can meet the needs of scientific research and clinical practice.

[Key words] T807; tau protein; radiopharmaceutical; PET

阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)是常见的神经系统变性疾病之一,是一种持续性神经功能障碍,也是痴呆最常见的病因,其发生可导致进行性记忆减退、认知障碍、人格改变等症状。65岁以上患病率约5%,85岁以上患病率高于20%,是老年人死亡的主要原因之一^[1-3]。AD的病理特征主要是老年斑(senile plaques, SP)、神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)和广泛神经元缺失。tau蛋白是一种微管相关蛋白,过度磷酸化tau蛋白是造成神经纤维缠结的主要原因,且AD患者病情严重程度与tau蛋白具有明显相关性。因此,tau蛋白显像剂的研究逐渐受到关注^[4-5]。

近年来,研究者们研发了多种tau蛋白的PET显像剂,如“THK系列”(包括 ^{18}F -THK5105、 ^{18}F -THK523、 ^{18}F -THK5117、 ^{18}F -THK5351)^[6-8]，“RO系列”(包括 ^{18}F -RO6958548、 ^{11}C -RO6931643、 ^{11}C -RO6924963)^[9-11]，“T系列”(包括 ^{18}F -T807、 ^{18}F -T808)^[12]以及 ^{11}C -PBB3^[13]等。其中“T系列” ^{18}F -T807和 ^{18}F -T808是由Siemens公司开发的tau蛋白的分子探针。

课题组在参考相关文献的基础上^[14-15],使用GE公司的TRACERlab FX_{FN} 氟多功能合成模块(图1),以 ^{18}F -T807前体(BOC保护)NPPI-95(1)为原料,使用改进一锅法自动合成了 ^{18}F -T807(2),提高了产品产率,并开展初步的正常大鼠生物分布实验,探索其分布特征。

1 材料与合成过程

1.1 原料、试剂与设备

^{18}F -T807前体(BOC保护)NPPI-95(江苏华益

[基金项目] 辽宁省自然科学基金(20170540927)

[作者简介] 左峰,药师,研究方向:临床医学工程技术, Email: zuofeng.medical@qq.com

[通信作者] 霍花,博士,硕士生导师,研究方向:药物代谢分析, Email: hh_602@sina.com

图1 ^{18}F -T807(2)的合成方程式

公司);强阴离子交换固相萃取柱(QMA柱)、K222、碳酸钾水溶液、乙腈、(德国ABX公司);乙醇(国药化学试剂);盐酸(国药分析质检中心);DMSO(北京百灵威);Ultimate C₁₈柱(美国Waters:4.6 mm×250 mm, 5 μm);富 ^{18}O 水(日本大阳日酸株式会社);0.22 μm MILLEX-GS液体滤膜、0.2 μm Millex-25空气滤膜(德国默克);0.7 mm×40 mm针头(西班牙BD Microlance);Wistar大鼠(北部战区总医院实验动物科)。溶剂乙醇为色谱纯,其余均为分析纯。

TRACERlab FX_{FN}(美国GE)配备半制备VP 250×16高效液相色谱(德国MN)和紫外检测器及放射性检测器;正电子示踪剂质量控制薄层扫描仪(美国Bioscan),配塑料闪烁体晶体探测器;分析用HPLC(北京优联);GC-7900气相色谱(北京天美);CRC 25R活度计(美国Capintec),合成条件满足药品生产质量管理规范(GMP)的要求。

1.2 合成方法

合成开始前,合成器各溶剂瓶预装溶剂如表1和图2所示。

表1 TRACERlab FX_{FN}合成器各溶剂瓶预装溶剂

溶剂瓶	溶剂
1号瓶(V1)	1.5mg K ₂ CO ₃ 溶于0.5 ml水
2号瓶(V2)	1.5 mg K222溶于1ml乙腈
3号瓶(V3)	1 mg前体溶于1.2 ml DMSO溶剂
5号瓶(V5)	1.5 ml HPLC流动相
6号瓶(V6)	1.5 ml HPLC流动相
圆底烧瓶	2 ml 84%NaHCO ₃ 水溶液和30 ml水
7号瓶(V7)	9 ml 0.9%生理盐水
8号瓶(V8)	1 ml 乙醇
9号瓶(V9)	10 ml 水

^{18}F -T807 自动化合成主要有以下几步:① ^{18}F 离子的柱分离纯化及蒸馏干燥。②T807前体的 ^{18}F 离子亲核取代反应。③ ^{18}F -T807的HPLC分离纯化。④ ^{18}F -T807 C₁₈柱溶剂转换与再纯化。

自动合成的具体步骤如下:

(1)共2.5 ml含 ^{18}F 离子的 ^{18}O 水由MINItrace加速器经由 $^{18}\text{O}(p, n)^{18}\text{F}$ 反应制备,轰击束流45μA,轰击时间40 min, ^{18}F 离子混合液由氦气作为载气经过TARGET管线传输到TRACERlab FX_{FN}合成模块的锥形瓶内。

(2)V10、V11号阀门开启, ^{18}F 离子及 ^{18}O 水混合液中的 ^{18}F 离子在真空泵抽取下被QMA柱(由1 ml乙醇,2 ml水活化)捕获滞留, ^{18}O 水回收进入 ^{18}O 水回收瓶。

(3)V1、V13、V24号阀门开启,V1号瓶内的K₂CO₃溶液流经V1、V10、QMA柱、V11、V13,将 ^{18}F 离子交换抽入反应瓶。

(4)关V1、V13号阀门,开启V2号阀门将V2号瓶内穴醚K222乙腈溶剂抽入反应管, ^{18}F 离子进入穴醚形成复合物。

(5)关V2号阀门,开启V20号阀门混合液在氦气吹拂下于85 °C共沸蒸馏8 min,然后加热到110 °C,在氦气吹拂下共沸蒸馏4 min除水。

(6)开启V3、V19号阀门,在氦气推动下V3号瓶内的前体流入反应管,V3、V19、V24号阀门关闭,反应管加热到140 °C,反应10 min。

(7)反应瓶降温到50 °C,开V24、V25号阀门恢复大气压。

(8)反应后混合液经由V5、V6号瓶内的共3 ml HPLC流动相(25%乙醇水溶液,调整pH至2.0)冲洗到V26号阀门下的中转瓶内,然后打开V26、V12号阀门,在氦气压力下经由Fluid进入HPLC进样环,在Fluid控制下进样环旋转,产物进入HPLC半制备柱,Eluent1号瓶内流动相以5 ml/min的流速通过柱子分离。流动相以紫外(UV, λ=254 nm)和放射计数器监测。图3是 ^{18}F -T807的HPLC及UV图。

(9) ^{18}F -T807溶液通过V18号阀门进入圆底瓶,圆底瓶内装有2 ml 84% NaHCO₃水溶液和30 ml 无菌注射用水。然后经V21、V15、V17号阀门,产

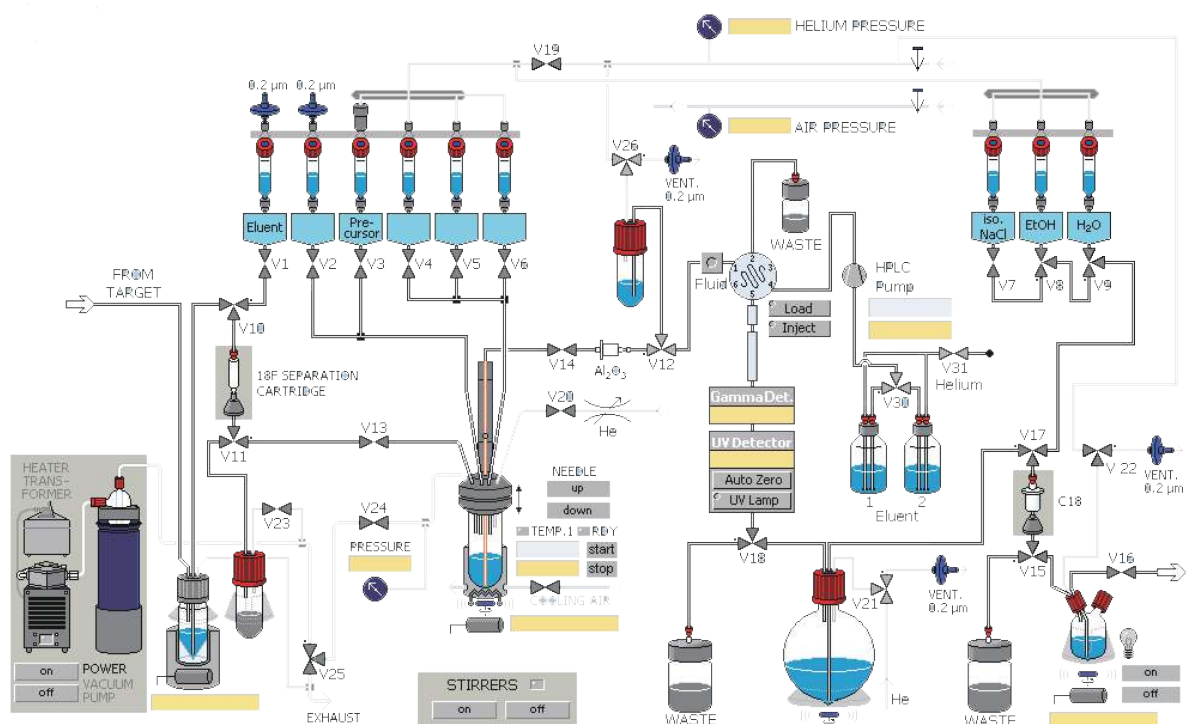


图2 TRACERLAB FX_{FN} 合成器示意图

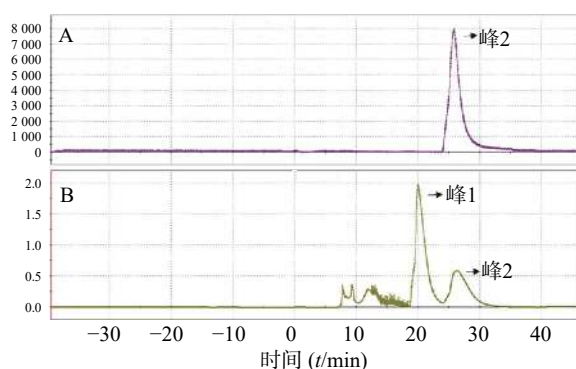


图3 ¹⁸F-T807 放射性 HPLC(A) 及 UV(B) 分离图
(峰2为产物峰)

物溶液通过 V15、V17 号阀门间的 C₁₈ 柱(以 5 ml 乙醇和 10 ml 水活化), 产物会被捕获滞留在柱子上, 然后打开 V9 阀门, 用 V9 号瓶内 10 ml 水冲洗柱子到废液瓶(WASTE)内, 然后 C₁₈ 柱经由 V8 号瓶内的 1 ml 乙醇冲洗进入 V15 阀门下的产品瓶, 再经由 V7 号瓶内装有 9 ml 生理盐水再次冲洗。

(10) 手动打开 V22 和 V16 号阀门, ¹⁸F-T807 在氦气压力下经过 0.22 μ m 液体滤膜过滤进入分装热室的收集瓶。

1.3 质量控制

对 3 批连续生产的产物进行了质量控制。质控项目包括澄明度、pH、核素半衰期、核素纯度、

放化纯度、K222 和残留溶剂、细菌内毒素、无菌测试, 测试结果均符合标准要求。

1.4 正常大鼠生物分布实验

选择健康雄性 Wistar 大鼠 30 只, 分为 6 组, 每组 5 只, 实验前 6 h 禁食禁水, 每只通过尾静脉注入 0.2 ml(约 7.4 MBq) 的 ¹⁸F-T807 后, 分别在 5、15、30、60、90、120 min 断头处死, 取出脑、心、肝、肺、肾、肌肉、骨和血, 去污、称重、计数, 数据经衰减校正后计算放射性摄取率(每克组织的放射性摄取剂量占注射剂量的百分比)。

2 结果与讨论

¹⁸F-T807 有多种合成方法, 本文在参考相关文献报道基础上, 优化反应条件, 改变前体用量为 1 mg, 同时使用 HPLC 分离条件为 25% 乙醇水溶液, pH 调整至 2.0, 在线脱 BOC 保护。C₁₈ 柱溶剂转换与再纯化, 应用经改进的合成方法使合成产率由 (20.5 \pm 6.1)% 提高到 (25.7 \pm 5.8)%, 总反应时间为 70 min。

连续 3 批产品, 其质量控制结果如下: 肉眼观察溶液无色透明, 6 h 后 pH 值为 7, 半衰期满足要求, 不包含长半衰期核素($t_{1/2}$ >5 天), 核素纯度大于 99.5%, HPLC 和 TLC 分析结果, 即化学纯度和放化纯度合格, 流动相是 50% 甲醇/水(HCl 调节 pH

至 2,), 流速 1.3 ml/min, 紫外检测波长为 254 nm, TLC 条件为 NH₃H₂O-甲醇-CH₂Cl₂ (1 : 5 : 94), 气相色谱结果显示残留的丙酮、乙腈、DMSO 等溶剂均在检测线下, 细菌内毒素实验(鲎试剂法)合格, 无菌检查合格。各项结果表明产品符合人体使用标准。

正常大鼠 ¹⁸F-T807 在体内的生物分布如表 2 所示, 可见大部分器官在给药 5 min 后摄取率最高, 其中肾、肝、血的摄取率较高, 超过 5.56%ID/g (%ID/g 为放射性摄取率, 即各器官的每克放射性摄取值), 在肌肉、骨骼摄取率相对较低, 因此推断 ¹⁸F-T807 主要是经过肝肾排出体外。 ¹⁸F-T807 的脑、心、肺摄取率最低, 120 min 已降低至本底水平 (1.08% ID/g), 各器官的放射性摄取率随时间的推移逐渐降低, 但清除较慢, 在 120 min 时大部分器官仍有较高的摄取率。

表 2 ¹⁸F-T807 在正常大鼠体内的分布 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

器官	放射性摄取率(% ID/g)					
	5 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
脑	2.25±0.18	2.03±0.86	1.81±0.54	1.59±0.62	1.20±0.57	1.11±0.38
心	2.05±0.58	1.99±0.66	1.78±0.31	1.55±0.25	1.19±0.74	1.08±0.36
肝	5.79±2.58	5.95±1.17	5.48±0.66	5.29±0.71	4.83±0.84	4.27±0.86
肺	2.12±0.91	2.01±0.56	1.91±0.19	1.57±0.73	1.21±0.52	1.09±0.23
肾	7.36±4.01	5.11±1.21	3.89±1.99	3.63±1.82	3.17±1.68	2.99±0.98
肌肉	2.34±0.86	2.57±1.18	2.44±0.95	2.19±1.36	2.04±1.03	1.51±0.89
骨	2.58±0.91	2.67±0.75	2.02±0.68	1.99±0.82	1.52±0.46	1.27±0.55
血	5.56±0.35	5.41±0.56	4.73±0.74	4.57±1.31	4.22±0.37	4.01±0.45

3 结论

在 TRACERlab FX_{FN} 合成器上使用优化条件的一锅法自动合成了 ¹⁸F-T807, 提高了产品产率。合成后进行的各种质量控制检测均显示产品符合质控标准。初步的正常大鼠生物分布实验, 显示了其不同时间放射性摄取率的分布情况, 为应用该产品开展人体显像提供了重要基础。

【参考文献】

[1] CHO H, CHOI J Y, HWANG M S, et al. Tau PET in Alzheimer disease and mild cognitive impairment[J]. *Neurology*, 2016, 87(4): 375-383.
 [2] CHIEN D T, SZARDENINGS A K, BAHRI S, et al. Early clin-

ical PET imaging results with the novel PHF-tau radioligand [¹⁸F]-T808[J]. *J Alzheimers Dis*, 2014, 38(1): 171-184.
 [3] WEINER M W, VEITCH D P, AISEN P S, et al. The Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: a review of papers published since its inception[J]. *Alzheimers Dement*, 2012, 8(1suppl): S1-68.
 [4] MACCIONI R B, FARÍAS G, MORALES I, et al. The revitalized tau hypothesis on Alzheimer's disease[J]. *Arch Med Res*, 2010, 41(3): 226-231.
 [5] SABRI O, SEIBYL, ROWE C, et al. Use of florbetapir-PET for imaging beta-amyloid pathology[J]. *JAMA*, 2011, 305(3): 275-283.
 [6] OKAMURA N, FURUMOTO S, FODERO-TAVOLETTI M T, et al. Non-invasive assessment of Alzheimer's disease neurofibrillary pathology using ¹⁸F-THK5105 PET[J]. *Brain*, 2014, 137(Pt6): 1762-1771.
 [7] FODERO-TAVOLETTI M T, OKAMURA N, FURUMOTO S, et al. ¹⁸F-THK523: a novel in vivo tau imaging ligand for Alzheimer's disease[J]. *Brain*, 2011, 134(Pt4): 1089-1100.
 [8] OKAMURA N, FURUMOTO S, HARADA R, et al. Characterization of ¹⁸F-THK-5351, a novel PET tracer for imaging tau pathology in Alzheimer's disease[EB/OL]. 2014
 [9] HONER M, GOBBI L, KNUST H, et al. Preclinical evaluation of ¹⁸F-RO6958948, ¹¹C-RO6931643, and ¹¹C-RO6924963 as novel PET radiotracers for imaging tau aggregates in alzheimer disease[J]. *J Nucl Med*, 2018, 59(4): 675-681.
 [10] WONG D F, COMLEY R A, KUWABARA H, et al. Characterization of 3 novel tau radiopharmaceuticals, ¹¹C-RO-963, ¹¹C-RO-643, and ¹⁸F-RO-948, in healthy controls and in alzheimer subjects[J]. *J Nucl Med*, 2018, 59(12): 1869-1876.
 [11] KUWABARA H, COMLEY R A, BORRONI E, et al. Evaluation of ¹⁸F-RO-948 PET for quantitative assessment of tau accumulation in the human brain[J]. *J Nucl Med*, 2018, 59(12): 1877-1884.
 [12] GAO M Z, WANG M, ZHENG Q H. Fully automated synthesis of [¹⁸F]T807, a PET tau tracer for Alzheimer's disease[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25(15): 2953-2957.
 [13] MARUYAMA M, SHIMADA H, SUHARA T, et al. Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal controls[J]. *Neuron*, 2013, 79(6): 1094-1108.
 [14] 王治国, 左峰, 张国旭, 等. 新型阿尔茨海默症Tau蛋白PET显像剂¹⁸F-T807的合成[J]. *中国医学装备*, 2019, 16(2): 125-127.
 [15] HUANG Y Y, CHIU M J, YEN R F, et al. An one-pot two-step automated synthesis of [¹⁸F]T807 injection, its biodistribution in mice and monkeys, and a preliminary study in humans[J]. *PLoS One*, 2019, 14(7): e0217384.

[收稿日期] 2020-09-08 [修回日期] 2021-09-09
 [本文编辑] 陈盛新