



正电子显像剂 ^{18}F -FDG的制备与质量控制

正电子断层显像(Positron-emission tomography, PET)能够在分子代谢水平上反映生理病理过程,已广泛应用于肿瘤、冠心病及神经精神疾病的研究和临床诊断[1]。 $2\text{-}^{18}\text{F}\text{-}2\text{-脱氧-D-葡萄糖}$ (^{18}F -FDG)是目前最为常用的正电子的放射性药物, ^{18}F -FDG是载于美国药典的第一个正电子放射性药物,我国药典尚未收录。我们利用本中心引进的加速器-FDG全自动合成系统制备了 ^{18}F -FDG静脉注射液,并对其进行了较系统的质量控制研究,以便为其临床应用提供重要的质量保证。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要仪器 回旋加速器-FDG合成系统由美国GE公司生产; LC-10AT HPLC分析系统(日本Shimadzu公司生产)配有LB 508 Radioflow Detector(德国EG &G公司生产); CS-9301 PC TLC Scanner购自日本Shimadzu公司; γ 计数器由上海原子核研究所生产; CRC-15R Ionization Chamber购自CAPINTEC公司。

1.1.2 实验动物与试剂 昆明种小白鼠,体质量为20~25 g,批号990815(第一军医大学南方医院实验动物研究所提供); 97% $^{18}\text{O}\text{-H}_2\text{O}$ (美国GE公司); 1, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-2-O-三氟甲烷磺酰基- β -D-吡喃甘露糖(三氟甘露糖)(Sigma公司)。

1.2 ^{18}F -FDG的制备[2]

1.2.1 $^{18}\text{F}\text{-F-}$ 的生产 采用回旋加速器通过 $^{18}\text{O}(p, n)^{18}\text{F}$ 核反应,应用小体积 $^{18}\text{O}\text{-H}_2\text{O}$ 靶,用16.5 MeV、25 μA 的质子束流连续轰击靶60 min。

1.2.2 ^{19}F -FDG和 ^{18}F -FDG的合成 利用亲核取代反应和FDG Microlab系统合成 ^{19}F -FDG和 ^{18}F -FDG,其合成过程如下:(1) $^{19}\text{F}\text{-F-}$ 和 $^{18}\text{F}\text{-F-}$ 的捕集:含有 $^{19}\text{F}\text{-F-}$ 的水溶液或 $^{18}\text{F}\text{-F-}$ 的靶水被氮气加压传出后,慢慢地通过4-(4-甲基哌啶)吡啶阴离子固相交换树脂柱, $^{19}\text{F}\text{-F-}$ 和 $^{18}\text{F}\text{-F-}$ 被吸附在柱上, $^{18}\text{O}\text{-H}_2\text{O}$ 靶水回收再用。(2)流动相的转换:用无水乙腈2 ml代替水作为流动相,加压流过固相交换柱,并加热干燥。(3)亲核取代反应的发生:三氟甘露糖约30 mg溶解于无水乙腈2 ml中,让其通过加热的固相交换柱,在柱上与 $^{19}\text{F}\text{-F-}$ 或 $^{18}\text{F}\text{-F-}$ 发生亲核取代反应,生成乙酰化 ^{19}F -FDG或 ^{18}F -FDG(1, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-2-[19 或 ^{18}F]氟-2-脱氧-D-葡萄糖)。(4)乙腈的蒸发:乙酰化的 ^{19}F -FDG或 ^{18}F -FDG溶液传送到水解容器中,加热,通入氮气,蒸发所有乙腈。(5)水解:在水解容器中加入盐酸,加热水解20 min,除去乙酰保护基。(6)中和:停止加热阻止水解,加入含NaOH的磷酸盐缓冲溶液,中和盐酸。(7)纯化:上述中和产物通过一个 C_{18} 反相柱和一个氧化铝柱进行纯化,纯化后的产物通过无菌滤膜,最后得到 ^{19}F -FDG溶液或 ^{18}F -FDG注射液。

1.3 ^{18}F -FDG的质量控制

1.3.1 比活度 用放射性活度计测定放射性活度,化学量按天平称量的反应物量换算成产物量进行计算。

1.3.2 放射性核纯度 取1 ml 刚制备的 ^{18}F -FDG注射液, 用活度计测定不同时间点的活度值, 用半对数作图法测定半衰期, 计算核纯度。

1.3.3 化学纯度 用TLC Scanner 系统和HPLC系统分别测定产物化学纯度。TLC法以硅胶板为层析板, 以V乙腈: V水 = 95:5 为展开剂, 用10 %的硫酸甲醇溶液显色。HPLC法以氨基柱为层析柱, 以V_{乙腈}: V_水 = 15:85(内含少量氟化钾)为流动相, 流速为1 ml/min。

1.3.4 放射化学纯度 用硅胶板层析结合 γ 计数法和放射性-HPLC系统分别测定产物放射化学纯度。

1.3.5 急性毒性试验 按中华人民共和国药典1990年版进行。将6只正常昆明小鼠尾静脉分别注入185 MBq (5 mCi) ^{18}F -FDG注射液, 上千倍于成人用量, 观察1周。

1.3.6 无菌试验 取2 ml 稀释后的 ^{18}F -FDG注射液, 分2管用营养肉汤培养基进行细菌培养, 培养72 h 后进行观察。

1.3.7 无热源试验(鲎试验法) 按中华人民共和国药典1995年版进行。

1.3.8 pH值测定 用pH试纸测定。

2 结果

2.1 ^{18}F -FDG的制备

^{19}F -FDG的结构经元素分析、MS及NMR测定证实, ^{18}F 为 ^{19}F 的同位素。 ^{18}F -FDG结构和 ^{19}F -FDG类似, 但 ^{18}F -FDG具有放射性, 结构鉴定不便, 所以只测定 ^{19}F -FDG的结构。用25 μA 的质子束流连续轰击 ^{18}O - H_2O 60 min 后, 按上述方法合成的 ^{18}F -FDG, 经时间衰变校正后, 其放化产率约为54%。

2.2 ^{18}F -FDG质量控制

2.2.1 比活度 经计算其比活度不小于 3.7×10^7 MBq/mol (1×10^3 Ci/mol)。

2.2.2 放射性核纯度 用半对数作图法测定半衰期约为110 min, 放射性核纯度约为100%。

2.2.3 化学纯度 经TLC法($R_f=0.4$)和HPLC法($R_t=2.1$ min)测定, 化学纯度均大于99%。

2.2.4 放射化学纯度 用TLC法($R_f=0.4$)和HPLC法($R_t=2.1$ min)测定, 放化纯度均大于95%。

2.2.5 急性毒性试验 小鼠给药后观察1周, 无任何不良反应和死亡发生。

2.2.6 无菌试验 培养72 h后观察, 无细菌生长。

2.2.7 无热源试验 符合细菌内毒素试验要求。

2.2.8 pH值 pH值约7.0。

2.2.9 外观 无色或淡黄色, 无沉淀。

3 讨论

^{18}F -FDG主要利用亲电取代反应和亲核取代反应两种方法进行合成的[3], 前一方法产物易出现立体异构体, 且在制备 ^{18}F 的前体时会损失一定活度的 ^{18}F , 而亲核取代反应法不仅可以获得高比活度的 ^{18}F -FDG, 而且操作简便。我们利用Toorongian等[2]的亲核取代反应法避免了亲电取代反应法的缺陷, 采用固相阴离子交换树脂柱, 能够快速、方便地合成 ^{18}F -FDG, 经质量控制分析, 合成的 ^{18}F -FDG适于动物实验和人体疾病研究诊断。本法的关键因素是固相阴离子交换树脂柱的质量及反应温度的控制, 靶水的纯度也是极其重要的影响因素。我们利用全自动的回旋加速器-FDG合成系统和进口的原料, 不仅保证了较高的合成产率, 而且避免操作人员暴露于强辐射环境。

质量控制对于安全使用放射性药物至关重要, 但 ^{18}F -FDG的半衰期只有110 min, 每次使用前, 不允许对各项质控指标都进行测定, 在临床应用中, 放射化学纯度直接影响图像的质量, 在各项质控指标中最为重要, 放射化学纯度已作为日常必测项目。因此, 我们采用了TLC法和HPLC两种方法测定了 ^{18}F -FDG的放射化学纯

度, 放化纯度均大于95%。我们也尝试了多种分离柱的HPLC法, C18-柱(流动相为MeOH:H₂O=90:1, V/V)可以测定¹⁸F-FDG的放射化学纯度, 但分离效果不如NH₂-柱, 糖柱也可以很好地分离¹⁸F-FDG, 然而操作不如NH₂-柱方便。TLC法结合γ计数法也较方便, 但若没有配置放射性扫描仪, 却比放射性HPLC法费时。所以, 我们已将NH₂-柱的比放射性HPLC法作为测定¹⁸F-FDG的放射化学纯度的常规方法。

本研究结果表明, 我们制备的¹⁸F-FDG, 其理化和生物性质能满足临床应用要求, 已在临床PET显像中取得良好的效果。

参考文献:

[1] Campbell B, Comar D. Guest editor's note: positron-emission tomography (PET): a revolutionary new approach to drug discovery and development[J]. Drug Information J, 1997, 31: 989-90.

[2] Toorongian SA, Mulholland GK, Jewett DM, et al. Routine production of 2-deoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucose by direct nucleophilic exchange on a quaternary 4-aminopyridinium resin[J]. Nucl Med Biol, 1990, 17(3): 273-9.

[3] Coenen HH, Pike VW, Stocklin G, et al. Recommendation for a practical production of [2-¹⁸F] fluoro-2-deoxy-D-glucose[J]. Appl Radiat Isot, 1987, 38(8): 605-10.

参考文献:

[1] Campbell B, Comar D. Guest editor's note: positron-emission tomography (PET): a revolutionary new approach to drug discovery and development[J]. Drug Information J, 1997, 31: 989-90.

[2] Toorongian SA, Mulholland GK, Jewett DM, et al. Routine production of 2-deoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucose by direct nucleophilic exchange on a quaternary 4-aminopyridinium resin[J]. Nucl Med Biol, 1990, 17(3): 273-9.

[3] Coenen HH, Pike VW, Stocklin G, et al. Recommendation for a practical production of [2-¹⁸F] fluoro-2-deoxy-D-glucose[J]. Appl Radiat Isot, 1987, 38(8): 605-10.