

烟碱乙酰胆碱受体显像剂 2-[^{18}F]-A-85380 的合成及大鼠脑磷屏显像

黄乐乐¹, 刁尧², 张大龙¹, 尹雅芙^{1,*}, 李亚明¹

1. 中国医科大学 附属第一医院 核医学科, 辽宁 沈阳 110001;

2. 中国医科大学 实验技术中心, 辽宁 沈阳 110001

摘要: 通过 ^{18}F 标记前体 $\text{Me}_3\text{N}^+-\text{Boc-A-85380} \cdot \text{CF}_3\text{SO}_3^-$, 合成了烟碱乙酰胆碱受体显像剂 2-[^{18}F]-A-85380, 并探讨该显像剂在大鼠脑内的分布。采用取代法以 $\text{Me}_3\text{N}^+-\text{Boc-A-85380} \cdot \text{CF}_3\text{SO}_3^-$ 为反应前体, 在含氮芳香环的 2 位用 ^{18}F 进行标记, 合成 nAChRs 显像剂 2-[^{18}F]-A-85380; 以聚酰胺薄膜为支持介质、生理盐水为展开剂, 测定标记物的标记率和放化纯度; SD 大鼠 4 只尾静脉注射 0.5 mL (1.48 MBq) 2-[^{18}F]-A-85380, 分别在 5、60、120、180 min 时用多聚甲醛灌流固定, 取出大脑做冠状位切片, 将切片与磷屏在专用暗盒内曝光 30 min, 取出磷屏进行扫描显影。结果表明: 2-[^{18}F]-A-85380 的标记率达 93%, 其放化纯在标记后 2、4、6 h 均大于 90%。磷屏显像结果显示: 注药后 60 min 时磷屏所受辐射最强, 所得图像光强度大于 5 min、120 min 和 180 min 的; 丘脑分布最多、皮质次之、小脑及脑干分布较少。

关键词: 2-[^{18}F]-A-85380; nAChRs; 大鼠; 磷屏显影

中图分类号: R817 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-9950(2014)06-0369-05

doi: 10.7538/hhx.2014.36.06.0369

Radiosynthesis of 2-[^{18}F]-A-85380 and Phosphor Screen Imaging on Rats

HUANG Le-le¹, DIAO Yao², ZHANG Da-long¹, YIN Ya-fu^{1,*}, LI Ya-ming¹

1. Department of Nuclear Medicine, The First Affiliated Hospital,
China Medical University, Shenyang 110001, China;

2. Center of Experiment and Technology, China Medical University, Shenyang 110001, China

Abstract: To investigate the radiosynthesis of 2-[^{18}F]-A-85380 and its biodistribution in rat's brain, 2-[^{18}F]-A-85380 was synthesized with $\text{Me}_3\text{N}^+-\text{Boc-A-85380} \cdot \text{CF}_3\text{SO}_3^-$ as precursor. The radiolabeled compound was characterized by polymide TLC, in which the sub-stratum of saline was used as developing agent. SD rats were sacrificed at 5, 60, 120 and 180 min after tail vein injection of 0.5 mL (1.48 MBq) freshly prepared 2-[^{18}F]-A-85380. The heads were cut off and the brains were taken integrallty, then cut into slices and exposed with phosphor for 30 min, after that the phosphor was put into scan system and the

收稿日期: 2013-11-07; **修订日期:** 2014-07-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81000623); 辽宁省科学技术计划资助项目(2013225049)

作者简介: 黄乐乐(1987—), 女, 甘肃天水人, 硕士, 影像医学与核医学专业

*** 通信联系人:** 尹雅芙(1975—), 女, 辽宁沈阳人, 博士, 教授, 核医学专业, E-mail: yinyf-2001@163.com

digital images were obtained. The labeling yield of 2-[^{18}F]-A-85380 is 93% and its radiochemical purity are exceeded 90% at 2, 4 and 6 h. Phosphor screen imaging show that the phosphor screen receives the highest radioactivity at 60 min after injection. The intensity of image is denser than that of 5, 120, 180 min. Accumulated radioactivity is greatest in thalamus, intermediate in the cortex, fewer in cerebellum and brainstem.

Key words: 2-[^{18}F]-A-85380; nAChRs; rats; phosphor screen imaging

烟碱乙酰胆碱受体显像在国外被广泛应用于帕金森病、阿尔茨海默症等中枢神经系统紊乱性疾病及烟草成瘾等机制的研究中^[1-4]。烟碱乙酰胆碱受体显像剂种类繁多,但大多因特异性差、存在毒性、亲和力低等原因而不适用或逐渐退出临床应用。而 2-[^{18}F]-A-85380 以其特异性强、亲和力高、无毒性而广受关注,在国外已应用十余年,被广泛应用于帕金森、阿尔茨海默、早老性痴呆和血管损伤等的机制研究中。合成该显像剂较 ^{18}F -FDG 复杂,且费用较高,亦因技术原因,国内对该显像剂只基于基础研究^[5],尚未有临床应用报道。本工作拟通过取代法合成烟碱乙酰胆碱受体显像剂 2-[^{18}F]-A-85380,并探讨其在大鼠脑内的分布,为国内临床应用奠定基础。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

前体 $\text{Me}_3\text{N}^+\text{Boc-A-85380} \cdot \text{CF}_3\text{SO}_3^-$, 德国 ABX 公司;DMSO,ALDRICH 公司;乙腈,Fisher ChemAlert Guide 公司;氨基聚醚 $\text{K}_{2.2.2} \cdot \text{K}_2\text{CO}_3$, MERCK 公司;三氟乙酸,MTEDIA 公司;其他试剂均为国产分析纯。SD 大鼠(250~300 g),SYXK(辽)2008-0005,由中国医科大学实验动物

中心提供。

MINItrace 型回旋加速器,GE 公司; ^{18}F -FDG 计算机控制化学合成模块(CPCU),型号 FN/FXc,GE 公司;1260LC 型 HPLC,Agilent 公司;QMA 及 C18 固相萃取柱,Waters 公司;旋转蒸发仪,上海雅荣生化设备有限公司;磷屏显像仪,美国 BIO-RAD 公司;FJ-391A2 型微机放射性活度计,北京核仪器厂。

1.2 2-[^{18}F]-A-85380 的合成

按照文献[6]合成了烟碱乙酰胆碱受体显像剂(2-[^{18}F]-A-85380),其合成流程图及放化路线示于图 1、2。

1.2.1 ^{18}F -FDG 计算机控制化学合成模块(CPCU)的改造及半自动化合成 合成前需对 ^{18}F -FDG 计算机控制化学合成模块(CPCU)进行改造。因合成 2-[^{18}F]-A-85380 需两只反应瓶,在 FXc 和 FN 模块间连接了传送中间产物的导管,及增加中间产物纯化装置和加样瓶。本实验中对终产物 2-[^{18}F]-A-85380 采用 HPLC 进行分离。2-[^{18}F]-A-85380 的分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}$,相对分子质量 181,分子结构式示于图 3。

1.2.2 2-[^{18}F]-A-85380 的放化纯度、比活度、稳定性检测 采用薄层层析法检测产品的放射

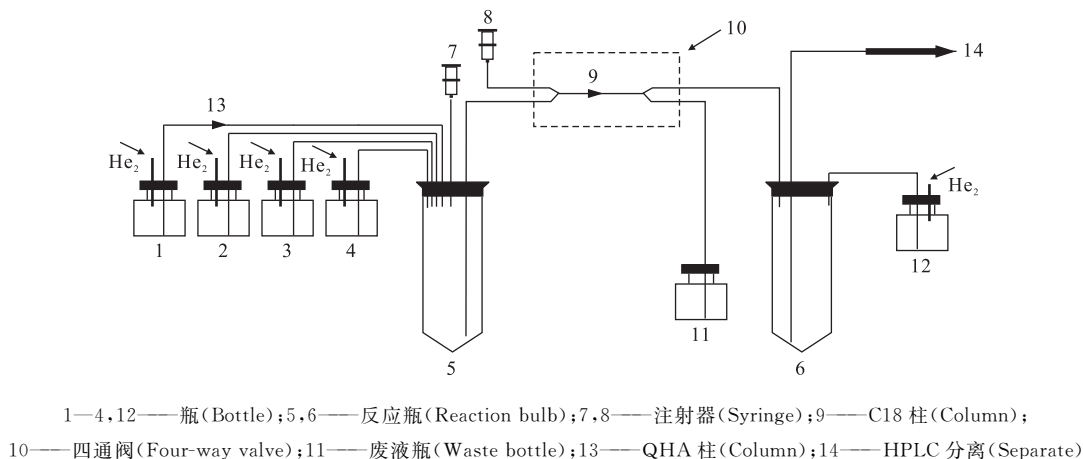


图 1 2-[^{18}F]-A-85380 的合成流程图

Fig. 1 Radiosynthesis flow chart of 2-[^{18}F]-A-85380

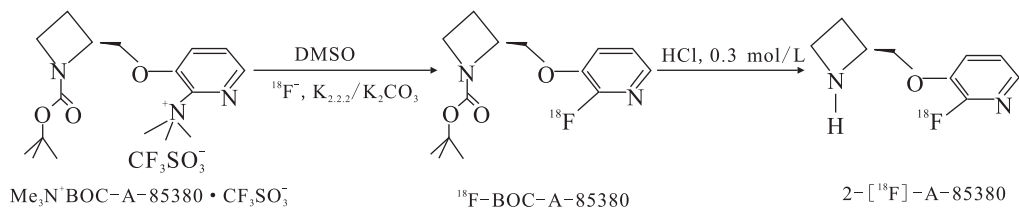


图 2 2-[¹⁸F]-A-85380 的放化合成路线

Fig. 2 Scheme for the radiosynthesis of 2-[¹⁸F]-A-85380

化学纯度。吸取产品 2 μL,在距聚酰胺薄膜层析板底端 1 cm 处点样,游离¹⁸F⁻作为对照点样,点样直径 0.2 cm,生理盐水为展开剂,上行展开。展开结束后晾干,磷屏成像,然后分段剪取聚酰胺层析板,经 γ 放免计数仪测量放射性计数,计算标记率(Y)、放化纯度和放射性比活度(α, Bq/g)。

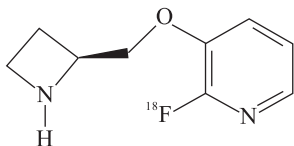


图 3 2-[¹⁸F]-A-85380 的分子结构式
Fig. 3 Molecular structural formula of 2-[¹⁸F]-A-85380

$$Y = N/N_{\text{tot}} \times 100$$

$$\alpha = \text{放射性核素投入量} \times$$

$$Y / \text{投入的前体化合物的总量}$$

式中: N, 2-[¹⁸F]-A-85380 的放射性计数; N_{tot}, 点样量总放射性计数。取 50 μL 产品分别加入到 100 μL 生理盐水和新鲜人血清 2 种体系中,在 37 °C 下贮存,分别于 2、4、6 h 取样,聚酰胺薄膜层析测定放化纯度,观察标记物的稳定性。

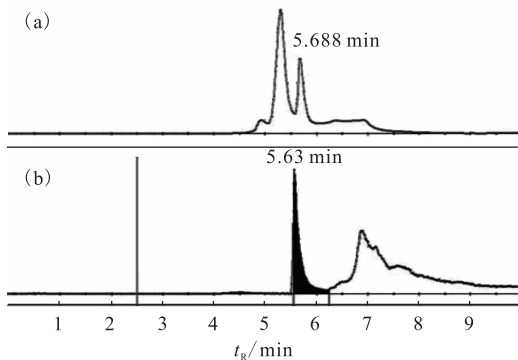
1.3 2-[¹⁸F]-A-85380 的大鼠脑切片磷屏显影

取 SD 大鼠 4 只,体重 250~300 g,随机编号为 1—4。将制得的 2-[¹⁸F]-A-85380 用生理盐水稀释至 2 960 MBq/L,每只大鼠经尾静脉注入 0.5 mL (1.48 MBq) 2-[¹⁸F]-A-85380,1 号大鼠于注药后 5 min 多聚甲醛灌流固定,取出大脑,冠状位切片,层厚 2 mm,将切片整齐排列在载玻片上,切片之间保持一定距离,以便获得清晰的影像。第 2—4 号大鼠分别于注药后 60、120、180 min 多聚甲醛灌流固定并制备切片(制备过程同第一组)。将制备好的切片和磷屏放入专用暗匣中,将磷屏曝光 30 min,扫描已曝光的磷屏,获得完整的数字化图像。

2 结果

2.1 产品的标记率及稳定性

2-[¹⁸F]-A-85380 的半制备 HPLC 分离结果示于图 4。由图 4 可知: 2-[¹⁸F]-A-85380 的紫外吸收峰的 t_R 和放射性吸收峰的 t_R 分别为 5.688、5.63 min,经 HPLC 分离收集 5.5—6.5 min 的馏分。



(a)——紫外峰(Ultraviolet peak),

(b)——放射性峰(Radioactivity peak)

图 4 2-[¹⁸F]-A-85380 的半制备 HPLC 分离结果

Fig. 4 HPLC purification of 2-[¹⁸F]-A-85380

在以聚酰胺薄膜为支持介质、生理盐水为展开剂的体系中,2-[¹⁸F]-A-85380 的 R_f = 0.5,游离的¹⁸F⁻的 R_f = 0.983。经测定,2-[¹⁸F]-A-85380 的标记率达 93%,活度浓度为 51.13 GBq/L,比活度为 1.512 TBq/g。

体外稳定实验结果表明: 37 °C 下,在生理盐水和人血清 2 种体系中,2-[¹⁸F]-A-85380 放置 2、4、6 h 的放化纯度均大于 90%。

2.2 大鼠脑切片磷屏显影

在磷屏未饱和的前提下,磷屏影像光强度与磷屏受到的辐射成正比^[7]。大鼠脑切片磷屏显影结果示于图 5。由图 5 可知: 注药后 60 min 的脑切片磷屏影像光强度最大,即注药后 60 min 脑内分布达到最大值,此时影像清晰。丘脑部位显像

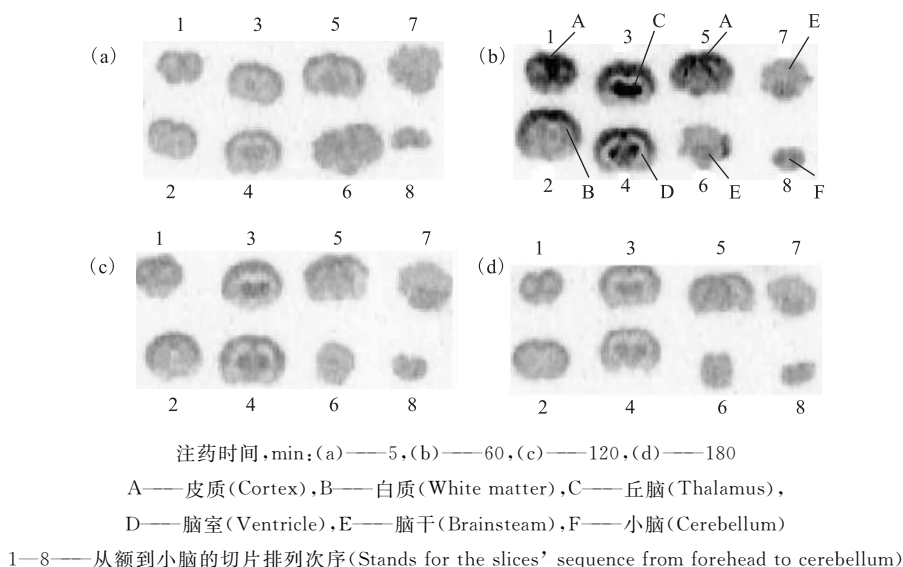


图 5 大鼠脑切片磷屏显影

Fig. 5 Phosphor screen imaging of rats' brain

剂浓聚最多,其次为皮质,白质、脑干及小脑属于轻度浓聚,与文献[5]结果一致。5 min 的影像显像剂摄取较 60 min 时少,肉眼观察丘脑和皮质显像剂浓聚程度相当;120 min 和 180 min 时,影像光强度随射线衰变而下降,显像剂分布仍同 60 min 的;120 min 和 180 min 的影像光强度差别不大,说明该放射性配体在脑内分布稳定,清除缓慢。

3 讨论

近年来,磷屏显影利用磷屏技术在放射自显影领域发挥了自身优势^[7],其原理为:磷屏是由细小的 BaFBr:Eu²⁺ 晶体构成的感光屏,当含放射性核素的样品靠近磷屏时,来自样品的辐射能激发 Eu²⁺ 上的电子,使 Eu²⁺ 氧化为 Eu³⁺,BaFBr 被还原为 BaFBr⁻。这样磷屏上就保留了来自于核辐射的信息。当用一定波长的激光束对磷屏进行扫描时,BaFBr⁻ 吸收能量释放电子,将 Eu³⁺ 还原为 Eu²⁺,当 Eu²⁺ 变为基态时,释放出光子,这些光子经过光电倍增管转变为电信号,计算机接收电信号后处理成磷屏影像,可以对影像进行进一步分析和定量。由于磷屏的 BaFBr:Eu²⁺ 晶体对核辐射比核乳胶更灵敏,可以大大缩短曝光时间,而且该方法具有更宽的线性范围(可以达到 5 个数量级),也不需要暗室,特别是磷屏可以反复使用,减少了废弃物。

本工作利用磷屏显影技术研究了 2-[¹⁸F]-A-

85380 在大鼠脑内的分布。结果显示,丘脑分布最高,皮质次之,白质、小脑及脑干轻微摄取,与文献[5]结果一致。nAChR 主要存在于大脑、脊髓及其它神经组织,包括 $\alpha_1\beta_2$ 、 $\alpha_3\beta_x$ 、 $\alpha_2\beta_2$ 、 $\alpha_1\beta_1\delta\gamma$ 、 α_7 和 α_8 等亚型,是离子通道受体,其中 90% 以上为 $\alpha_1\beta_2$ 亚型。显像结果与脑内 $\alpha_1\beta_2$ 受体分布一致,表明该放射性配体对 $\alpha_1\beta_2$ nAChR 特异性结合度高,适合 nAChR 显像。本课题前期药物分布结果显示 2-[¹⁸F]-A-85380 在小鼠体内广泛分布,主要经过肝脏和肾脏进行代谢,肝、肾的放射性摄取在注入后 5 min 时分别为 0.243% ID/g、0.484% ID/g,180 min 时则分别下降为 0.022% ID/g、0.013% ID/g。注入后 60 min 脑中的放射性摄取达到最高值为 0.145% ID/g,150 min 时在脑内摄取大于其他组织器官,脑中摄取较多、清除缓慢、状态稳定^[6]。磷屏显像结果表明,60 min 时磷屏影像光强度最大,120 min 至 180 min 的磷屏影像光强度缓慢降低。这与前期研究变化一致。

综上所述,2-[¹⁸F]-A-85380 的制备方便、体外稳定。产品的标记率、放化纯度、比活度经检测符合放射性药品质量要求,适合 nAChR 显像,为国内临床应用奠定了基础。

参考文献:

- [1] Kendziorra K, Wolf H, Meyer P M, et al. Decreased cerebral $\alpha_1\beta_2$ nicotinic acetylcholine receptor availability in patients with mild cognitive impair-

ment and Alzheimer's disease assessed with positron emission tomography[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2011, 38(3): 515-525.

[2] Bucerius J, Manka C, Schmaljohann J, et al. Feasibility of [¹⁸F]-2-Fluoro-A85380-PET imaging of human vascular nicotinic acetylcholine receptors *in vivo* [J]. Jacc Cardiovasc Imaging, 2012, 5(5): 528-536.

[3] Kimes A S, Chefer S I, Matochik J A, et al. Quantification of nicotinic acetylcholine receptors in the human brain with PET: bolus plus infusion administration of 2-[¹⁸F] F-A85380[J]. Neuroimage, 2008, 39(2): 717-727.

[4] Schmaljohann J, Gündisch D, Minnerop M, et al. *In vitro* evaluation of nicotinic acetylcholine receptors with 8532-[¹⁸F]F-A85380 in Parkinson's disease[J]. Nucl Med Biol, 2006, 33(3): 305-309.

[5] 张赟,吴战宏,李方,等. 2-[¹⁸F]-A-85380 的制备与 MicroPET 显像[J]. 同位素,2008,21(1):15-21.

[6] 黄乐乐,刁尧,尹雅芙,等. 烟碱乙酰胆碱受体显像剂 2-[¹⁸F]-A-85380 的合成及小鼠体内分布[J]. 中国医科大学学报,2013,42(9):777-780.

[7] 冯孝贵,梁俊福,章英杰,等. 用磷屏放射自显影法测量核素的放射性活度[J]. 核化学与放射化学, 2009,31(2):84-86.

公章更换声明

《核化学与放射化学》编辑部自 2015 年 1 月 1 日起,启用新刻制的公章,原公章将不再使用。特此声明!

旧印章印模



新印章印模

