

神经炎症显像剂¹⁸F-PBR06的自动化制备

乔洪文¹ 李 则¹ 陈树安¹ 梁志刚^{1,2} 卢 洁^{1,3}

1(首都医科大学宣武医院核医学科 北京 100053)

2(首都医科大学宣武医院信息中心 北京 100053)

3(首都医科大学宣武医院放射科 北京 100053)

摘要 ¹⁸F-PBR06是一种二代18 kDa转位蛋白(18 kDa Translocator Protein, TSPO)靶向显像剂,主要用于神经炎症正电子发射断层成像(Positron Emission computed Tomography, PET)显像研究。为了推动该显像剂的应用,本研究基于Neptis Perform型放射性药物合成仪,开发了¹⁸F-PBR06自动化合成流程和一次性卡套;参考中国药典2015年版制定了产品质量标准,并进行了异常毒性检查;通过正常小鼠实验考察产品生物分布情况。基于以上内容,本研究开展了正常志愿者和多发性硬化患者¹⁸F-PBR06 PET显像预实验。结果表明:¹⁸F-PBR06制备放射化学产率为(32±5)% (经衰减校正, $n=20$), 放化纯度大于99%, 比活度大于111 GBq·μmol⁻¹, 合成时间(54±2) min ($n=20$); 产品质控和异常毒性检查均符合中国药典相关要求。¹⁸F-PBR06在小鼠肾、肺、脾和心脏等TSPO高表达器官摄取较高。预试验结果表明:多发性硬化患者丘脑和脑桥的放射性摄取较正常人明显升高,这与该患者磁共振成像发现的病灶区域一致。以上结果证明本研究开发的工艺可以制备得到满足科研和临床应用要求的¹⁸F-PBR06制剂,为进一步神经炎症PET显像研究奠定了基础。

关键词 神经炎症, PET显像剂, ¹⁸F-PBR06, 自动化制备, 多发性硬化

中图分类号 TL927.3

DOI: 10.11889/j.0253-3219.2020.hjs.43.080301

Automated preparation of neuroinflammation imaging tracer ¹⁸F-PBR06

QIAO Hongwen¹ LI Ze¹ CHEN Shu'an¹ LIANG Zhigang^{1,2} LU Jie^{1,3}

1(Department of Nuclear Medicine, Xuanwu Hospital Capital Medical University, Beijing 100053, China)

2(Information Center, Xuanwu Hospital Capital Medical University, Beijing 100053, China)

3(Department of Radiology, Xuanwu Hospital Capital Medical University, Beijing 100053, China)

Abstract [Background] The 18 kDa translocator protein (TSPO) is an important neuroinflammatory imaging target for neurological diseases. ¹⁸F-PBR06 is a second-generation TSPO targeting agent with suitable biological properties, which has been used for human imaging. [Purpose] The study aims to promote the application of the imaging tracer ¹⁸F-PBR06 in research and clinical studies. [Methods] The disposable cassette system and process sequence for the Neptis Perform synthesizer was developed to produce ¹⁸F-PBR06. The quality control inspection method and specification for the product were established with reference to the Chinese Pharmacopoeia (2015 edition). The safety of the product was confirmed by the abnormal toxicity test following the requirements of the Chinese Pharmacopoeia (2015 edition). The biodistribution of the product was evaluated with normal mice. Based on the above research, the preliminary study of ¹⁸F-PBR06 PET imaging on healthy controls and patients with multiple

国家自然科学基金(No.81701726)、国家重点研发计划(No.2016YFC1306504、No.2017YFC0909100)资助

第一作者: 乔洪文, 男, 1986年出生, 2012年于北京师范大学获博士学位, 化学师, 主管技师, 放射化学专业

收稿日期: 2020-04-13, 修回日期: 2020-06-23

Supported by National Natural Science Foundation of China (No.81701726) and the National Key Research and Development Program of China (No.2016YFC1306504, No.2017YFC0909100)

First author: QIAO Hongwen, male, born in 1986, graduated from Beijing Normal University with a doctoral degree in 2012, Chemist, technician, focusing on radiochemistry

Received date: 2020-04-13, revised date: 2020-06-23

sclerosis was performed. **[Results]** ¹⁸F-PBR06 is successfully prepared with a radiochemical yield of (32±5)% (decay corrected, $n=20$), radiochemical purity >99%, specific activity >111 GBq·μmol⁻¹, and total time is (54±2) min ($n=20$). The product quality control tests and abnormal toxicity inspection are in compliance with the requirements of the Chinese Pharmacopoeia. The biodistribution study shows that high uptake is found in the organs of high densities of TSPO, including lung, kidney, spleen and heart. Preliminary PET/CT imaging research results show that the radioactive uptake in thalamus and pons of multiple sclerosis patient brain is significantly higher than that of health controls, and the white matter uptake is moderately increased. **[Conclusions]** The above results prove that ¹⁸F-PBR06 can be prepared through the process developed in this study. The product meets the requirements of research and clinical applications. This study makes favorable preparations for further clinical neuroinflammation PET imaging studies.

Key words Neuroinflammation, PET imaging, ¹⁸F-PBR06, Automated preparation, Multiple sclerosis

神经炎症(neuroinflammation)是中枢神经系统应对损伤的炎症样胶质细胞应答,在自身免疫病、神经退行性疾病、脑卒中等多种疾病中均有发生。神经炎症一方面有利于脑组织和退行神经的修复而具有保护作用,另一方面也可能导致附带脑组织损伤、神经元缺失和失能而具有神经毒性^[1-2]。正电子发射断层成像(Positron Emission computed Tomography, PET)能够在体检测脑中神经炎症情况,最常用的显像剂为18 kDa转位蛋白(18 kDa Translocator Protein, TSPO)靶向分子探针。TSPO主要位于线粒体内外膜的接触点上,病理研究证明TSPO表达数量同小胶质细胞的状态相关。在健康脑组织中,处于休眠状态的小胶质细胞中TSPO表达较少;当小胶质细胞被激活时,TSPO的表达显著升高。小胶质细胞激活是神经炎症的主要表现之一,因此TSPO可以作为神经炎症PET显像的生物标志物^[3]。

¹¹C-PK11195是使用较多的第一代TSPO PET显像示踪剂,但是其存在以下缺点:第一、进脑量相对较低,非特异性摄取和血浆蛋白结合较高,导致PET图像信噪比和特异性较低,难以发现脑中神经炎症的微小改变;第二、标记放射性核素¹¹C半衰期短(20 min),只能在有加速器的单位使用^[4]。在过去的十几年中,第二代TSPO显像剂被开发并用于动物模型和人体的神经炎症显像研究。第二代显像剂根据结构的不同可以分为两类:第一类是N-苯甲基-N-(2-苯氧基芳基)-乙酰胺衍生物,包括¹¹C-DAA1106、¹¹C-PBR28、¹⁸F-PBR06、¹⁸F-FEPPA等化合物;第二类是2-苯基吡唑-[1,5]嘧啶乙酰胺衍生物,包括¹¹C-DPA-713、¹⁸F-DPA-714、¹⁸F-PBR111等化合物。评价研究表明第二代TSPO靶向分子探针的亲性和性更高:相对于PK11195,¹¹C-PBR28的靶向亲和性高5~6倍、¹⁸F-PBR06高11倍、¹¹C-DPA-713高2倍、¹⁸F-DPA-714高1.5倍,高亲和性有利于改善PET图

像信噪比^[4-8]。第二代显像剂的药物动力学性质也有所提升,¹¹C-PBR28人脑显像研究表明,小脑可作为该显像剂定量计算的参比区域。另一对比研究表明,¹¹C-PBR28和¹⁸F-PBR06具有类似的体内动力学性质^[9]。

为了推动神经炎症PET显像临床研究,本研究开展了二代TSPO分子探针¹⁸F-PBR06自动化制备工艺研究:开发Neptis Perform型合成仪适用的一次性管路系统及配套流程,实现稳定、高效生产¹⁸F-PBR06制剂;参考中国药典2015年版,制定了¹⁸F-PBR06注射液的质量标准及检验方法;通过异常毒性检查考察了制剂的安全性;通过正常小鼠实验考察了制剂的体内生物分布情况。在以上工作的基础上,本研究开展了PET/CT显像预试验。以上研究为¹⁸F-PBR06在科研和临床中的进一步应用奠定了基础。

1 材料

1.1 试剂

前体和标准品按照文献合成^[10],色谱纯度大于99%。氨基聚醚222 mL、250 mL软包注射用水、一次性管路组装耗和注射器材购于德国ABX公司。固相萃取柱购于美国Waters公司。无菌滤膜购于美国默克密理博(Merck Millipore)公司。细菌内毒素检测卡(灵敏度5~0.05 EU·mL⁻¹)购于湛江安度斯生物有限公司,其余试剂均购于美国Simga-Aldrich试剂公司。

1.2 仪器

加速器为德国西门子公司RDS-111型。放射性药物合成仪为比利时ORA公司Neptis Perform型,配备美国安捷伦公司C18色谱柱(250 mm×9.6 mm, 5 μm)。分析型高效液相色谱(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)为安捷伦公司1260

型,配备美国菲罗门 C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)和 Bioscan 公司在线放射性检测器。气相色谱为安捷伦公司 7890 型,配备 Restek 气相色谱柱(0.53 mm 内径,1 μm 聚乙烯醇涂层)和氢火焰检测器。pH 为美国 Fisher 公司 Orion 型,配备微型探头。内毒素检测仪为美国查尔斯河实验室公司 PTS-Endotoxin 型。活度计为美国 CAPINTEC INC 公司 CRC-25R 型。

1.3 实验动物

昆明小鼠购于北京市海淀区兴隆实验动物养殖场,共 20 只,雄性,体重 19.0~22.3 g。动物实验已通过首都医科大学伦理委员会批准。

2 方法

2.1 ^{18}F -PBR06 自动化合成

用于 ^{18}F -PBR06 制备的一次性管路结构如图 1

所示,制备所需溶液通过注射器加载到一次性管路上:在淋洗液位置加载 0.6 mL 氨基聚醚 222(K222)/ K_2CO_3 溶液(10 mg K222 和 2 mg K_2CO_3 溶解于 0.3 mL 乙腈和 0.3 mL 水);第一个五联阀 3 位置加载 2.5 mL 无水乙腈;第一个五联阀 5 位置加载含有 2 mg 标记前体化合物的 1.5 mL 无水 DMSO 溶液;第二个五联阀 3 位置加载 6 mL 注射用水;第二个五联阀 5 位置加载 10 mL 注射用水。在制剂化五联阀的 2 位置加载 250 mL 注射用水;4 位置加载含有 1.5 mL 无水乙醇;在 5 位置加载 3.5 mL 含有 0.5% 抗坏血酸钠的生理盐水溶液;Oasis 固相萃取柱后三通阀常闭端通过注射针头加载含有 10 mL 0.5% 抗坏血酸钠-生理盐水溶液的制剂化瓶。制剂化瓶上加载长穿刺针头,然后通过一次性管路连接 0.22 μm 无菌滤膜,通入到最终产品瓶中。在半制备 HPLC 系统处加载流动相(乙腈/20 mmol·L⁻¹ pH 6.7 磷酸盐缓冲溶液=70/30),设置流速 3 mL·min⁻¹,UV 检测器设置检测波长 230 nm。

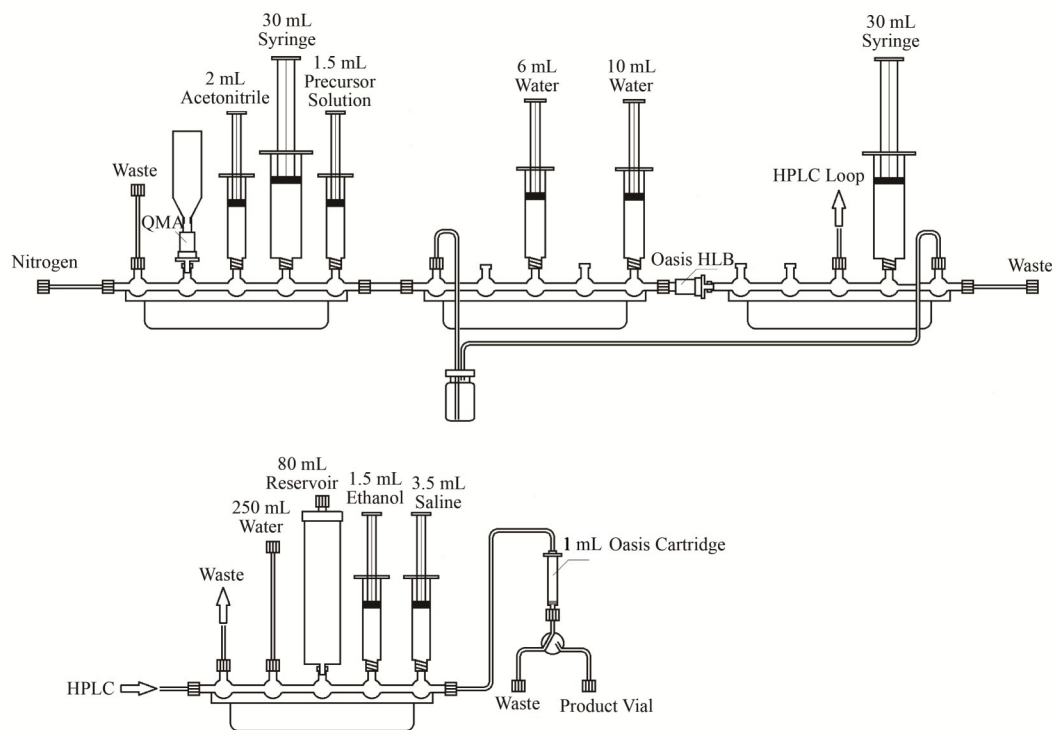


图 1 适用于 Neptis Perform 型合成仪器的 ^{18}F -PBR06 制备一次性管路结构和加载的试剂
Fig.1 Schematic of the disposable cassette for ^{18}F -PBR06 preparation with Neptis Perform synthesizers and reagents

^{18}F -PBR06 制备程序通过预设时间控制仪器运行:含 ^{18}F 离子的加速器靶水在负压作用下通过离子交换 QMA 柱(说明:QMA 柱为生产商 Waters 公司的商品名)柱,然后用 K222/ K_2CO_3 溶液将放射性活度从 QMA 柱上淋洗并加入到反应瓶中,加热至 95 °C 并蒸发干燥;抽取约 0.6 mL 无水乙腈并加入到反应瓶中,再次蒸发干燥;反应瓶减压,将前体溶液加入

到反应瓶中,加热至 140 °C 反应 15 min,放射化学反应式如图 2 所示;反应溶液冷却至 60 °C,然后加入第二个五联阀 5 位置上的 10 mL 水进行稀释;所得溶液通过 30 mg Oasis HLB 固相萃取小柱;用第一个五联阀 3 位置上剩余的乙腈将粗产品洗脱,并加入到第三个五联阀 4 位置的 30 mL 注射器中,用 6 mL 水冲洗 Oasis 小柱,并稀释粗产品溶液;将粗产品溶

液进样到 HPLC 系统中进行纯化, 监测放射性和紫外吸收色谱图, 根据放射性信号收集含有目标产物的流动相(目标产物峰保留时间约为 14 min)。收集的流动相加入到制剂化五联阀 3 位置的储液罐中; 从 2 位置抽取 30 mL 注射用水稀释上述流动相, 所得溶液通过 1 mL Oasis HLB 固相萃取柱; 再次从 2 位置抽取 30 mL 注射用水, 冲洗 1 mL Oasis HLB 柱; 用 1.5 mL 乙醇将目标化合物从 1 mL Oasis HLB 柱上洗脱并加入到产品制剂化瓶中; 用 5 位置上的 3.5 mL 生理盐水溶液冲洗 1 mL Oasis 柱, 并加入到制剂化瓶中; 在仪器氮气压力推动下, 制剂化瓶中溶液通过无菌滤膜进入最终产品瓶, 制得 ^{18}F -PBR06 注射液。

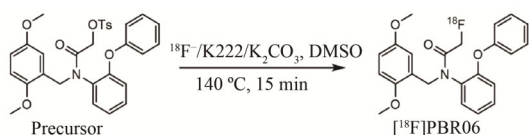


图 2 制备 ^{18}F -PBR06 的化学反应式

Fig.2 Chemical reaction formula of ^{18}F -PBR06 preparation

2.2 ^{18}F -PBR06 注射液质量控制分析

^{18}F -PBR06 注射液的质量控制标准参考中国药典 2015 年版相关规定及已收录品种制定^[11], 检验内容表 1。合成结束后, 首先用注射用水冲洗生产中使用的 0.22 μm 无菌滤膜, 然后通过起泡点检测考察滤膜完整性, 然后从产品瓶中抽取 2 mL 制剂溶液用于质量控制分析: 将 1 mL 质控样品加入到无菌瓶中, 待衰变后进行无菌检测。将剩余 1 mL 样品加入到无菌试管中, 用于其他项目质控分析: 首先在明亮的灯光下于铅玻璃后目视进行外观检查; 移取 20 μL 样品用细菌内毒素检测用水稀释 50 倍, 用于进行内毒检测; 移取 500 μL 样品, 通过活度计测定放射性浓度和半衰期; 移取 100 μL 样品, 用色谱级水稀释 50 倍, 进行气相色谱分析检测残留溶剂(色谱条件为: 柱温 200 $^{\circ}\text{C}$, 进样口温度跟随柱温, 检测器温度 240 $^{\circ}\text{C}$, 氢气流速 30 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量 1 μL); 取 100 μL 样品, 通过 pH 计测定 pH 值; 取 20 μL 样品进行 HPLC 分析(流动相为: 含氟化钾 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙腈/pH 6.7 磷酸盐缓冲溶液=70/30, 流速 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 230 nm), 进行放射化学鉴别、放射化学纯度、化学杂质和 ^{18}F -PBR06 含量测定; 取 2 μL 样品, 通过比色法进行 K222 限量检查。

2.3 ^{18}F -PBR06 注射液异常毒性检查

取雄性昆明小鼠 5 只(体重 19.0~20.6 g), 通过尾静脉注射在 5 s 内匀速注射 0.5 mL 采用上述工艺制备的 ^{18}F -PBR06 注射液, 注射液的放射性活度为

22.94~19.62 MBq。注射完成后将小鼠置于安静环境, 保证充足食物和饮水供应, 并按照 12 h 节律提供照明。每隔 12 h 观察小鼠生存状态, 共观察 48 h。

2.4 ^{18}F -PBR06 在正常小鼠体内分布研究

取雄性昆明小鼠 15 只(体重 19.7~22.3 g), 随机分为 3 组, 每组 5 只。通过尾静脉向小鼠体内注射放射性活度为 0.74 MBq 的 ^{18}F -PBR06 注射液。注射后将小鼠置于安静环境并保证食水供应, 然后在不同时间点(5 min、30 min、60 min)断颈处死, 解剖提取血液、心脏、肺、脾、肝、肾、肌肉、股骨、脑, 用天平称重, 并用 γ 计数器测量放射性计数。通过与注射剂量的 1% 对照样品比较, 计算单位质量组织中的放射性摄取量(%ID/g)。

2.5 ^{18}F -PBR06 PET/CT 显像预试验

本研究经首都医科大学宣武医院伦理委员会审查, 获得批准后实施, 纳入临床诊断为正常的志愿者一名(女性, 39 岁), 多发性硬化患者一名(女性, 35 岁), 受试者签署知情同意书后进行试验。入组的多发性硬化患者病史 7 年余, 依据 2017 年版 McDonald 诊断标准确诊为继发进展型多发性硬化。受试者经肘静脉弹丸式注射 ^{18}F -PBR06 制剂 370 MBq, 然后于低刺激环境中休息; 60 min 后以动态模式采集头部 PET 数据 30 min。PET 数据采用 OSEM 方法重建(子集 4, 迭代 24, 矩阵 256 $\times$ 256)。在 PET 图像上勾画皮层、白质、丘脑、中脑、小脑等感兴趣区, 并以小脑为参考区计算标准摄取比(Standardized Uptake Value ratio, SUVr)。

3 结果与讨论

3.1 ^{18}F -PBR06 自动化合成

神经炎症 PET 显像在过去的 10 年中发展迅速, 并在多发性硬化和阿尔兹海默病等疾病研究中已有较多应用, 在帕金森病和脑卒中的研究中也取得了一些成果^[12]。性质优良的显像剂是开展 PET 研究的必要条件。本研究选择具有较好生物性质的神经炎症显像剂 ^{18}F -PBR06, 利用 Neptis Perform 型合成仪开展了该显像剂的制备研究。使用本研究开发的一次性管路系统和流程, ^{18}F -PBR06 注射液制备总耗时为 50~58 min($n=20$), 其中 ^{18}F 离子纯化和干燥耗时约 9 min, 氟化反应耗时约 16 min, HPLC 纯化耗时约 15 min, 制剂化过程约 10 min, ^{18}F -PBR06 放射化学产率为 (32 $\pm$ 5)% (经衰减校正, $n=20$)。2009 年 Briard 等^[13]首次报道了 ^{18}F -PBR06 的制备, 使用以溴基为离去基团的前体化合物和 TRACERlab FX_N 型

合成装置,制备 ^{18}F -PBR06的放射化学产率为12.2% ($n=6$)。在同年的报导中该方法被用于 ^{18}F -PBR06人体显像研究。在2014和2015年报道的评价研究中,使用以溴基为离去基团的前体化合物制备 ^{18}F -PBR06的产率较低,仅为 $(2.1\pm 0.7)\%$ ($n=10$)和 $(2.17\pm 0.38)\%$ (经衰减校正)^[14-15]。2011年Wang等设计合成了以对甲苯磺酰基为离去基团的前体化合物,使该组研制的合成仪器, ^{18}F -PBR06制备产率提高至30%~60%(经衰减校正),而且改善了产品制剂的化学纯度。本研究使用一次性管路系统制备 ^{18}F -PBR06的产率同已报道结果具有可比性^[9,16]。

本研究优化 ^{18}F -PBR06半制备色谱纯化条件:采用乙腈/20 nmol·L⁻¹ pH 6.7 磷酸盐缓冲溶液=70/30流动相,目标化合物保留时间约为14 min,与非放射性杂质有较好分离度。当采用乙腈/磷酸盐缓冲溶液=75/25流动相时,目标化合物保留时间为11 min,由于杂质UV色谱峰拖尾,导致目标化合物放射性色谱峰同杂质峰有部分重叠。降低流动相中乙腈含量可使目标化合物保留时间进一步延长,且获得较好分离度,但是会导致总合成时间延长,因此本研究采用乙腈/20 nmol·L⁻¹ pH6.7 磷酸盐缓冲溶液=70/30作为产品纯化流动相。本研究采用的反应时间为15 min,未作进一步优化,计划在后续工作中予以改进,从而减少制备时间。

3.2 ^{18}F -PBR06注射液质量控制分析

^{18}F -PBR06注射液的生产工艺通过连续生产的三个批次进行验证,制剂质量控制分析结果均合格,具体结果如表1所示。稳定性研究表明:将三个验证批次产品溶液置于室温下6 h,然后进行第二次质量检测,产品的放射化学纯度、化学杂质和 ^{19}F -PBR06含量均未发生明显变化,这表明 ^{18}F -PBR06注射液在室温下6 h内具有良好的稳定性。工艺验证完成后,本研究进行了17次 ^{18}F -PBR06注射液的生产,质量控制分析结果均为合格,因此使用一次性管路系统及其流程生产的 ^{18}F -PBR06制剂能够满足临床显像研究和应用的要求。

3.3 ^{18}F -PBR06注射液异常毒性检查

根据中国药典2015年版通则1141“异常毒性检测法”,对采用本工艺生产的 ^{18}F -PBR06注射液进行了异常毒性检查,结果表明:给药48 h后5只小鼠均存活,且状态未见异常;解剖分析可见,受试小鼠脏器未发生明显改变。以上结果证明本研究工艺在制备 ^{18}F -PBR06注射液过程中未引入外源性毒物质及不安全因素。

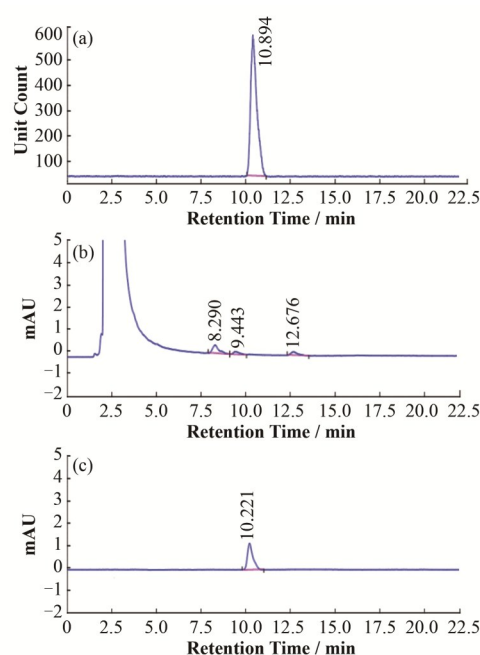


图3 ^{18}F -PBR06产品制剂质量控制分析HPLC色谱图 (a) 产品制剂放射性色谱图, ^{18}F -PBR06保留时间为10.394 min, (b) 产品制剂UV色谱图, (c) 对照化合物PBR06的分析HPLC色谱图,PBR06保留时间为10.221 min

Fig.3 ^{18}F -PBR06 product HPLC chromatograms for quality control analysis

(a) Radioactive chromatogram of product, retention time of ^{18}F -PBR06 is 10.394 min, (b) UV chromatogram of product, (c) UV chromatogram of reference compound, the retention time of PBR06 is 10.221 min

3.4 ^{18}F -PBR06在正常小鼠体内的生物分布研究

^{18}F -PBR06在小鼠各器官中的分布见表2。肺中初始摄取最高,然后以较快速度洗脱,这可能是由于肺中TSPO表达较高,在初始阶段合并血液中的放射性活度,因此表现摄取最高,随后放射性摄取随血液洗脱。肾、心脏、脾等器官放射性摄取较高,这与以上器官中TSPO高表达的生物学特性一致。 ^{18}F -PBR06在血液中清除速度快,在肌肉和骨中有一定摄取。脑中摄取的放射性较低,而且以较快速度洗脱,这可能与正常小鼠脑中胶质细胞处于休眠状态和TSPO表达较少有关。 ^{18}F -PBR06在正常小鼠体内的分布与文献报道的在猴和正常人体内的分布趋势一致^[8]。

3.5 ^{18}F -PBR06 PET/CT显像预试验

健康受试者头部PET/CT显像图像如图4(a)所示,皮质区域可见轻度放射性摄取,额叶、顶叶、颞叶、枕叶相对小脑的SUVr分别为1.06、0.95、1.02、1.01;楔叶区域摄取略高,SUVr为1.06;丘脑和脑桥区域摄取最高,SUVr分别为1.16和1.17;脑白质区域放射性摄取最低,SUVr为0.65,以上放射性摄取同TSPO在正常人脑中的自然分布情况相符^[3,8]。此

表 1 ¹⁸F-PBR06 注射液的质量控制标准及检验方法
Table 1 [¹⁸F]PBR06 injection quality control standards and methods

质控内容 Quality control	合格标准 Specification	批次 1 Batch 1	批次 2 Batch 2	批次 3 Batch 3
滤膜完整性 Filter integrity	不低于 50 psi NLT 50 psi	52.46 psi	54.07 psi	55.32 psi
外观 Appearance	无色澄明液体、无可见颗粒物 Clear, colorless, free of visible particulate	合格 Pass	合格 Pass	合格 Pass
半衰期 Half-life	105~115 min	109 min	107 min	114 min
放射性核纯度 Radionuclide purity	(511±51) keV	合格 Pass	合格 Pass	合格 Pass
pH 值 pH	5.5~8.0	6.43	6.72	6.56
放射性浓度 Strength	合成结束时不低于 74 MBq·mL ⁻¹ NLT 74 MBq·mL ⁻¹ at the end of synthesis	421.8 MBq·mL ⁻¹	392.2 MBq·mL ⁻¹	447.7 MBq·mL ⁻¹
放射化学鉴别 Radiochemical identity	与对照品的相对保留时间为 1.0±0.1 The relative retention time 1.0±0.1	1.03	1.03	1.02
放射化学纯度 Radiochemical purity	不低于 90% NLT 90%	100%	100%	100%
化学杂质 Chemical impurities	不高于 0.5 μg·mL ⁻¹ NLT 0.5 μg·mL ⁻¹	0.13 μg·mL ⁻¹	0.20 μg·mL ⁻¹	0.11 μg·mL ⁻¹
¹⁹ F-PBR06 含量 ¹⁹ F-PBR06 concent	不高于 5.0 μg·mL ⁻¹ NMT 5.0 μg·mL ⁻¹	<0.08 μg·mL ^{-1*}	<0.08 μg·mL ^{-1*}	<0.08 μg·mL ^{-1*}
氨基聚醚 Cryptand 222	不高于 50 μg·mL ⁻¹ NMT 5.0 μg·mL ⁻¹	合格 Pass	合格 Pass	合格 Pass
乙醇含量 Ethanol content	(10±2)% V/V	11%	10%	10%
残留溶剂 Eesidual solvent	乙腈不高于 0.041% DMSO 不高于 0.5% Acetonitrile NMT 0.041% DMSO NMT 0.5%	乙腈 1.1×10 ⁻⁵ DMSO 未检出 Acetonitrile 0.011% DMSO No detected	乙腈 1.13×10 ⁻⁴ DMSO 未检出 Acetonitrile 0.011% DMSO No detected	乙腈 1.03×10 ⁻⁴ DMSO 未检出 Acetonitrile 0.010% DMSO No detected
细菌内毒素 Endotoxin	不高于 15.0 EU·mL ⁻¹ NMT 15.0 EU·mL ⁻¹	<2.5 EU·mL ⁻¹	<2.5 EU·mL ⁻¹	<2.5 EU·mL ⁻¹
无菌 Sterility	无菌 Sterile	合格(无生长) Pass (no growth)	合格(无生长) Pass (no growth)	合格(无生长) Pass (no growth)

注：*低于 HPLC 检测方法的定量限 0.08 μg·mL⁻¹

Notes: *Less than the limit of quantitation 0.08 μg·mL⁻¹ of the HPLC inspection method. NLT: no less than, NMT: no more than

表 2 ¹⁸F-PBR06 在正常小鼠体内的生物分布(n=5, %ID/g)
Table 2 The biodistribution of ¹⁸F-PBR06 in normal mice (n = 5, %ID/g)

器官 Organ	5 min	30 min	60 min
血液 Blood	2.03±0.42	0.83±0.31	0.66±0.28
心脏 Heart	16.97±2.93	10.36±1.85	5.44±1.06
肺 Lung	19.40±3.94	8.22±1.76	6.05±1.31
脾 Spleen	14.11±2.25	12.46±1.98	8.21±1.45
肝 Liver	3.18±0.51	3.56±0.57	2.81±0.55
肾 Kedney	17.84±2.84	17.24±2.76	12.03±1.92
肌肉 Muscle	1.92±0.31	2.02±0.37	2.02±0.32
股骨 Femur	1.89±0.29	2.20±0.39	2.32±0.45
脑 Brain	1.86±0.28	0.90±0.14	0.65±0.11

外，受试者颅骨区域有高放射性浓集，说明 ¹⁸F-PBR06 在人体内可能发生了脱氟代谢。多发性硬化

患者头部 PET/CT 显像图像如图 4(b) 所示，可见患者丘脑、桥脑和白质区域放射性摄取升高（见 B 图中箭头标注），丘脑区域的放射性摄取较正常人明显增加，SUVr 为 1.50，且两侧摄取不对称，这与右侧躯体症状较重对应；脑桥和白质摄取也有明显升高，SUVr 分别为 1.39 和 0.79；额叶、顶叶、颞叶、枕叶以及楔叶皮质中的放射性摄取略有上升，SUVr 分别为 1.12、1.01、1.10、0.99 和 1.16。

健康受试者脑中放射性活度分布与文献报道的在国外进行的 PET 显像一致^[17-18]。多发性硬化患者脑中放射性摄取升高区域，同核磁共振成像检查提示的丘脑、桥脑、侧脑室旁区域存在病灶的发现一致。需要注意的是 ¹⁸F-PBR06 在脑中摄取绝对值比较低，而且不同患者病灶区分布不同，因此 PET 图像

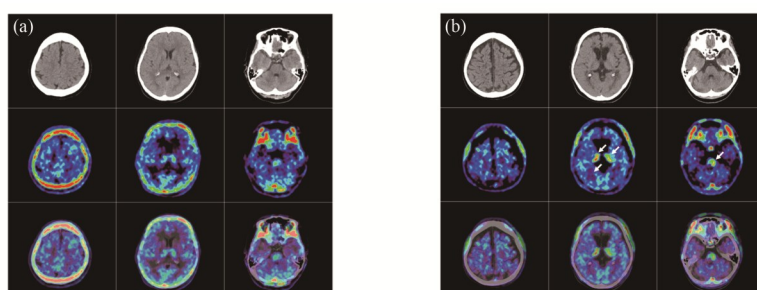


图4 ^{18}F -PBR06在健康对照(a)和多发性硬化患者(b)脑中的PET/CT显像结果
Fig.4 The PET/CT imaging of ^{18}F -PBR06 in health control (a) and multiple sclerosis patient (b)

视觉分析和手动勾画感兴趣区的难度较大,需要进一步建立基于全脑的图像自动化分析方法,提高图像评判的准确性。

4 结语

本研究开发了适用于Neptis Perform型合成仪的一次性管路系统及相应控制流程,实现了TSPO显像剂 ^{18}F -PBR06自动化制备;根据中国药典2015年版中的相关规定及收录的正电子核素标记放射性药物,制定了 ^{18}F -PBR06产品制剂的质量标准及检验方法。20次制备产品制剂的检验结果表明,采用一次性管路系统制备的 ^{18}F -PBR06满足质量标准要求。异常毒性检查结果表明,在使用本工艺制备 ^{18}F -PBR06注射液的过程中未引入不安全因素。综合动物分布研究和PET/CT显像预试验结果可知,采用本研究制备的 ^{18}F -PBR06注射液可用于中枢神经系统神经炎症PET显像研究。

参考文献

- Vivash L, O'Brien T J. Imaging microglial activation with TSPO PET: lighting up neurologic diseases? [J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2016, **57**(2): 165 – 168. DOI: 10.2967/jnumed.114.141713.
- Albrecht D S, Granziera C, Hooker J M, *et al.* In vivo imaging of human neuroinflammation[J]. *ACS Chemical Neuroscience*, 2016, **7**(4): 470 – 483. DOI: 10.1021/acschemneuro.6b00056.
- Karlstetter M, Nothdurfter C, Aslanidis A, *et al.* Translocator protein (18 kDa) (TSPO) is expressed in reactive retinal microglia and modulates microglial inflammation and phagocytosis[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2014, **11**(1): 1 – 13. DOI: 10.1186/1742-2094-11-3.
- Taliani S, Pugliesi I, Da Settimo F. Structural requirements to obtain highly potent and selective 18 kDa Translocator Protein (TSPO) Ligands[J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2011, **11**(7): 860 – 886. DOI: 10.2174/156802611795165142.
- Alam M M, Lee J, Lee S Y. Recent progress in the development of TSPO PET ligands for neuroinflammation imaging in neurological diseases[J]. *Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2017, **51**(4): 283–296. DOI: 10.1007/s13139-017-0475-8.
- Chauveau F, van Camp N, Dolle F, *et al.* Comparative evaluation of the translocator protein radioligands ^{11}C -DPA-713, ^{18}F -DPA-714, and ^{11}C -PK11195 in a rat model of acute neuroinflammation[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2009, **50**(3): 468 – 476. DOI: 10.2967/jnumed.108.058669.
- Golla S S V, Boellaard R, Oikonen V, *et al.* Parametric binding images of the TSPO ligand ^{18}F -DPA-714[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2016, **57**(10): 1543 – 1547. DOI: 10.2967/jnumed.116.173013.
- Fujimura Y, Kimura Y, Simeon F G, *et al.* Biodistribution and radiation dosimetry in humans of a new PET ligand, ^{18}F -PBR06, to image translocator protein (18 kDa)[J]. *The Journal of Nuclear Medicine*, 2010, **51**(1): 145–149. DOI: 10.2967/jnumed.109.068064.
- Singhal T, O'Connor K, Dubey S, *et al.* ^{18}F -PBR06 versus ^{11}C -PBR28 PET for assessing white matter translocator protein binding in multiple sclerosis[J]. *Clinical Nuclear Medicine*, 2018, **43**(9): e289 – e295. DOI: 10.1097/RLU.0000000000002179.
- Wang M, Gao M Z, Miller K D, *et al.* Synthesis of ^{11}C PBR06 and ^{18}F PBR06 as agents for positron emission tomographic (PET) imaging of the translocator protein (TSPO) [J]. *Steroids*, 2011, **76**(12): 1331 – 1340. DOI: 10.1016/j.steroids.2011.06.012.
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 2015年版. ISBN 978-7-506-7539-7. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 409–410. National Pharmacopoeia Committee. *The Pharmacopoeia*

- of the People's Republic of China[M]. 2015 Ed. ISBN 978-7-506-7539-7. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015: 409–410.
- 12 Heneka M T, Carson M J, Khoury J E, *et al.* Neuroinflammation in Alzheimer's disease[J]. *The Lancet Neurology*, 2015, **14**(4): 388–405. DOI: 10.1016/s1474-4422(15)70016-5.
- 13 Briard E, Zoghbi S S, Siméon F G, *et al.* Single-step high-yield radiosynthesis and evaluation of a sensitive ¹⁸F-labeled ligand for imaging brain peripheral benzodiazepine receptors with PET[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2009, **52**(3): 688 – 699. DOI: 10.1021/jm8011855.
- 14 Lartey F M, Ahn G O, Shen B, *et al.* PET imaging of stroke-induced neuroinflammation in mice using [¹⁸F] PBR06[J]. *Molecular Imaging and Biology*, 2014, **16**(1): 109–117. DOI: 10.1007/s11307-013-0664-5.
- 15 James M L, Belichenko N P, Nguyen T V V, *et al.* PET imaging of translocator protein (18 kDa) in a mouse model of Alzheimer's disease using N- (2, 5-dimethoxybenzyl) -2-¹⁸F-fluoro-N- (2-phenoxyphenyl) acetamide[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2015, **56**(2): 311–316. DOI: 10.2967/jnumed.114.141648.
- 16 Zhang H, Tan H, Mao W J, *et al.* ¹⁸F-PBR06 PET/CT imaging of inflammation and differentiation of lung cancer in mice[J]. *Nuclear Science and Techniques*, 2019, **30**(5): 83. DOI: 10.1007/s41365-019-0597-z.
- 17 Airas L, Rissanen E, Rinne J O. Imaging neuroinflammation in multiple sclerosis using TSPO-PET [J]. *Clinical and Translational Imaging*, 2015, **3**(6): 461–473. DOI: 10.1007/s40336-015-0147-6.
- 18 Singhal T, O'Connor K, Dubey S, *et al.* Gray matter microglial activation in relapsing vs progressive MS: a [F-18]PBR06-PET study[J]. *Neurology-Neuroimmunology & Neuroinflammation*, 2019, **6**(5): e587. DOI: 10.1212/NXI.0000000000000587.