

✧ 医学物理与工程学

Automatic synthesis of ^{18}F -MK-6240 with AllinOne synthesis module and preliminary application in Alzheimer disease

HUANG Zhenghai^{1,2}, REN Chao², WU Meiqi², ZHANG Xianzhong^{1,2}, HUO Li^{2*}

(1. Institute of Clinical Medicine, 2. Department of Nuclear Medicine, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China)

[Abstract] **Objective** To observe the preliminary application value of ^{18}F -MK-6240 automatically synthesized with AllinOne synthesis module in Alzheimer disease (AD). **Methods** Based on AllinOne synthesis module, ^{18}F -labeled intermediate ^{18}F -MK-6240-Boc was formed with ^{18}F -MK-6240 precursor through nucleophilic reaction with $^{18}\text{F}^-$. After hydrolyzed by acid, separated by high performance liquid chromatography and purified by solid-phase extraction, ^{18}F -MK-6240 was obtained, and quality control was performed. ^{18}F -MK-6240 PET/CT scanning was performed in 1 AD patient and 1 non-AD patient with cognitive impairment who were prospectively enrolled, and the preliminary application value of the product was observed. **Results** ^{18}F -MK-6240 was successfully automatically synthesized based on AllinOne synthesis module, the synthesis time was 80 min, no-corrected synthesis efficiency was $20.74\% \pm 2.31\%$, radiochemical purity was greater than 95%, and sterility test, bacterial endotoxins test, abnormal toxicity test and solvent residual test all met national standards. ^{18}F -MK-6240 PET/CT showed tau protein deposition of bilateral frontal, parietal, temporal and insular lobes in AD patients, while no tau protein deposition was observed in non-AD patients with cognitive impairment. **Conclusion** ^{18}F -MK-6240 could be automatically synthesized based on AllinOne synthesis module, with qualified product quality and clinical application value in AD.

[Keywords] Alzheimer disease; tau proteins; positron-emission tomography and computed tomography; ^{18}F -MK-6240

DOI:10.13929/j.issn.1003-3289.2024.12.022

基于 AllinOne 合成模块自动化合成 ^{18}F -MK-6240 并初步用于阿尔茨海默病

黄政海^{1,2}, 任超², 吴美其², 张现忠^{1,2}, 霍力^{2*}

(1. 中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院临床医学研究所, 2. 核医学科, 北京 100730)

[摘要] **目的** 采用 AllinOne 合成模块自动化合成 ^{18}F -MK-6240, 初步观察其用于阿尔茨海默病 (AD) 的价值。 **方法** 基于 AllinOne 合成模块使 ^{18}F -MK-6240 前体与 $^{18}\text{F}^-$ 发生亲核反应而形成 ^{18}F 标记中间体 ^{18}F -MK-6240-Boc, 再经酸水解、高效液相色谱法分离及固相萃取纯化获得 ^{18}F -MK-6240; 对其进行质量控制。前瞻性对 1 例 AD 及 1 例非 AD 认知障碍患者行 ^{18}F -MK-6240 PET/CT 扫描; 观察其初步应用价值。 **结果** 基于 AllinOne 合成模块成功自动合成 ^{18}F -MK-6240, 合成时间为 80 min, 不校正合成效率为 $20.74\% \pm 2.31\%$, 放射化学纯度 $>95\%$, 无菌检测、细菌内毒素检测、异常毒性检测及溶剂残留检测均符合国家标准。 ^{18}F -MK-6240 PET/CT 显示 AD 患者双侧额叶、顶叶、颞叶及岛叶 tau 蛋白沉积, 非 AD 认知障碍患者颅内未见 tau 蛋白沉积。 **结论** 基于 AllinOne 合成模块可自动化合成 ^{18}F -MK-6240 且产品质量合格, 用于

[基金项目] 北京协和医院中央高水平医院临床科研专项 (2022-PUMCH-B-071)。

[第一作者] 黄政海 (1994—), 男, 广东揭阳人, 硕士, 技师。研究方向: 放射性药物标记及质量控制。E-mail: huangzhenghai@pumch.cn

[通信作者] 霍力, 中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院核医学科, 100730。E-mail: huoli@pumch.cn

[收稿日期] 2024-08-13 **[修回日期]** 2024-12-04

AD 具有临床价值。

[关键词] 阿尔茨海默病; tau 蛋白质类; 正电子发射断层显像和计算机断层摄影术; ^{18}F -MK-6240

[中图分类号] R742; R817.4 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2024)12-1909-05

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是常见神经退行性疾病,以 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)沉积及 tau 蛋白过度磷酸化导致神经元纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT)形成为主要病理学特征^[1]。tau 蛋白 PET 脑显像可直观显示 tau 蛋白在脑组织中的分布^[2]。目前获得美国食品药品监督管理局批准的 tau 蛋白显像剂仅有 ^{18}F -Flortaucipir,其亲和力及药代动力学性质均较佳,但用于人体时却因受脱靶效应(off-target effect)影响(如健康人中脑、基底节及脉络丛亦可见放射性摄取)而诊断准确性有限^[3-4]。6-(^{18}F -fluoro)-3-(1H-吡咯^[2,3-c]吡啶-1-基)异喹啉-5-胺[6-(^{18}F -fluoro)-3-(1H-pyrrolo^[2,3-c]pyridin-1-yl)isoquinolin-5-amine, ^{18}F -MK-6240]为第二代 tau 蛋白显像剂,具有较高敏感度和特异度,且受脱靶效应影响较小^[5-6];其合成涉及模块主要包括 TRACERlab FXFN 合成模块^[7]、IBA Synthera[®] + 合成模块^[8]和 CFN-MPS20 多功能合成模块^[9]等,而罕见利用 AllinOne 合成模块的研究。本研究采用 AllinOne 合成模块、结合半制备型高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)系统自动合成 ^{18}F -MK-6240,并初步观察其用于 AD 的价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 受试者 前瞻性纳入 2024 年 3 月中国医学科学院北京协和医院 1 例 A β -PET 显像示大脑皮质 A β 沉积的女性 AD 患者(患者 1),51 岁,记忆力下降 3 年,表达意愿降低、反应迟钝 1 年余;认知综合检查示记忆力、执行功能减退,简易精神状态检查(mini-mental state examination, MMSE)26 分,蒙特利尔认知评估(Montreal cognitive assessment, MoCA)17 分;脑脊液检查示 A β 42/A β 40 减低、p-tau/A β 42 及 p-tau 增高;MRI 示双侧顶颞叶萎缩, ^{18}F -Florbetapir PET/CT 示大脑皮层淀粉样蛋白沉积。另纳入同期 1 例 A β -PET 显像示大脑皮质无 A β 沉积且非 AD 的男性认知障碍(语义变异型原发性进行性失语)患者(患者 2),64 岁,语言表达障碍、记忆力下降 2 年;认知综合检查示多项异常,语言评估结果示书写及命名差,MMSE 23 分,MoCA 16 分;MRI 示左颞叶萎缩, ^{18}F -Florbetapir PET/CT 示大脑皮层无明显淀粉样蛋白

沉积。本研究经医院伦理委员会批准(I-23PJ1281),检查前患者均签署知情同意书。

1.1.2 实验动物 封闭群小鼠 10 只,雌、雄各 5 只,体质量 18~22 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司。本实验经北京协和医院伦理审查委员会批准(XHDW-2022-087)。

1.2 仪器与方法

1.2.1 主要仪器及试剂 RDS111 型回旋加速器(CTI),AllinOne 合成模块(Trasis),内置半制备型 HPLC 仪,Waters XBridge BEH C18 半制备色谱柱(5 μm ,10 mm \times 250 mm);1260 Infinity II 液相色谱仪(Agilent),配备 1260 紫外检测器,Flow-RAM 放射性 HPLC 流量检测器,InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 色谱柱(4 μm ,4.6 mm \times 100 mm);uMI Panaroma(35S,联影)。Sep-Pak Plus Light QMA、Sep-Pak C18 柱及 Sep-Pak 氧化铝 N Plus 长型小柱(Waters);Millex-GV 0.22 μm 除菌过滤器(Millipore)。H₂¹⁸O(丰度 \geq 97%,江苏华益科技);氨基聚醚(kryptofix, K_{2.2.2})(ABX);乙醇(色谱级)(Fisher);乙醇(药用级)(湖南湘易康制药)。

1.2.2 合成 ^{18}F -MK-6240 基于 AllinOne 合成模块(图 1)合成 ^{18}F -MK-6240。①制备 $^{18}\text{F}^-$:加速器经 ^{18}O (p,n) ^{18}F 反应得到 $^{18}\text{F}^-$,并经靶水线将其传送到 6 号注射器中;采用 6 号注射器推注 $^{18}\text{F}^-$ 至已活化的 QMA 柱并捕获,再以 3 号注射器中的 K₂CO₃/K_{2.2.2} 乙腈水溶液(含 12.5 mg K_{2.2.2} 乙腈溶液 0.5 ml+含 1.25 mg K₂CO₃ 水溶液 0.5 ml)淋洗 QMA 柱,洗脱 $^{18}\text{F}^-$ 至反应管;加热反应管至 110 $^{\circ}\text{C}$ 、持续 600 s 得到无水 $^{18}\text{F}^-$;②标记反应:将 8 号注射器中的前体溶液[2 mg 前体溶于 1 ml N,N-二甲基甲酰胺(N,N-dimethylformamide, DMF)中]推入反应管,依次于 90 $^{\circ}\text{C}$ 、110 $^{\circ}\text{C}$ 、120 $^{\circ}\text{C}$ 及 140 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反应 3 min,完成放射性氟化反应;③水解反应:抽取 11 号瓶中的 3 mol/L 盐酸溶液 1 ml 加入反应管,于 90 $^{\circ}\text{C}$ 下水解 8 min;④半制备柱分离:对反应管内的粗产品进行 HPLC 分离,流动相为乙醇:0.05 mol/L 醋酸钠溶液=44:56(体积比),流速 3 ml/min,紫外线波长 254 nm,收集产品至 16 号瓶,以 30 ml 注射用水稀释、混匀;⑤溶剂转换:将收集瓶内的液体经 tC18 柱转移至废液瓶,

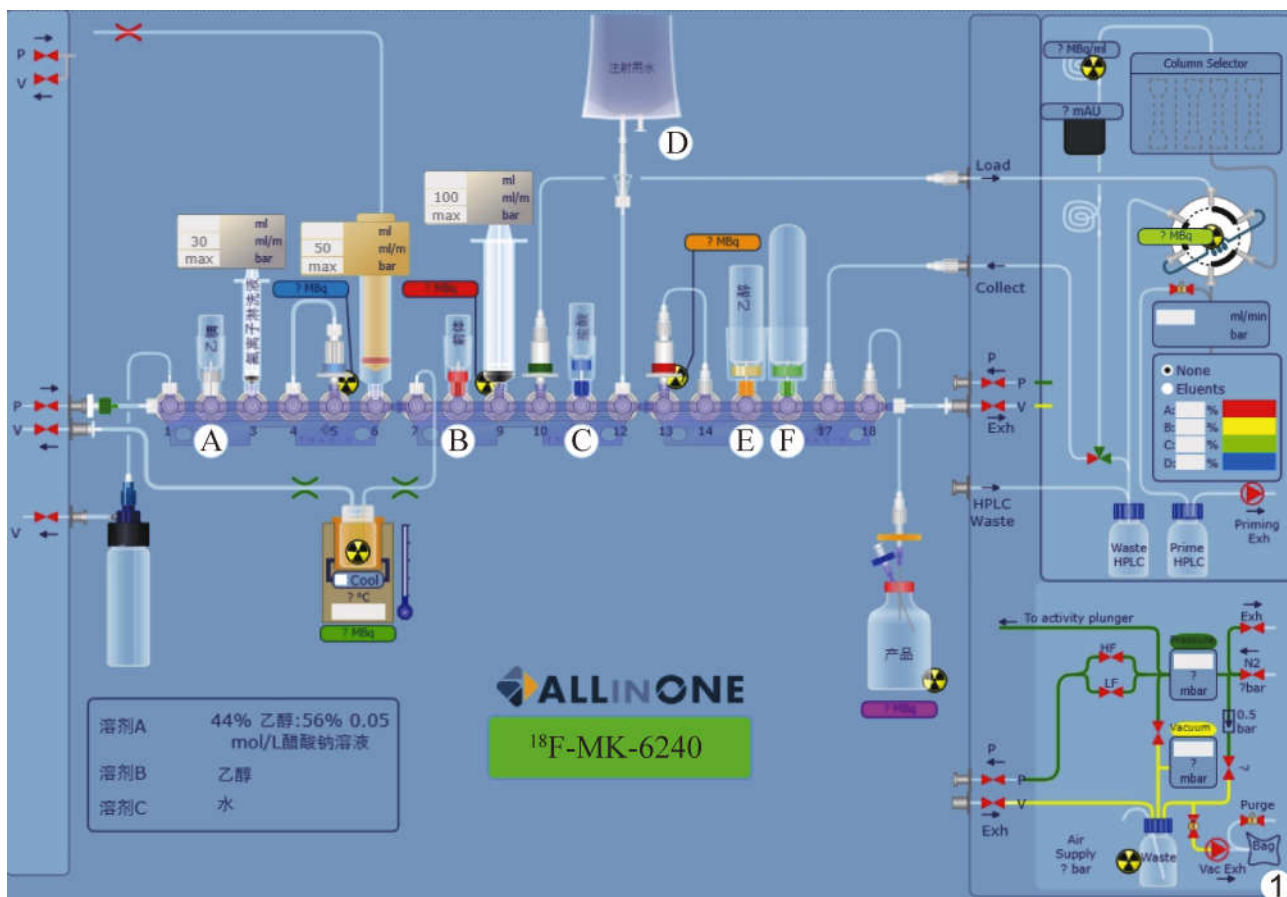


图 1 AllinOne 合成模块示意图 AllinOne 合成模块由管路系统、负压泵系统、气液传输系统、加热及冷却系统、HPLC 系统(含流动相、样品定量环、HPLC 泵、C18 半制备柱、紫外探测器及放射性检测器)及计算机控制系统等组成

以 10 ml 注射用水清洗 tC18 柱,再以 1 ml 乙醇从 tC18 柱上洗脱产品,并以 9 ml 注射用水稀释,最后通过无菌滤膜得到 ^{18}F -MK-6240。见图 2。

1.3 质量控制 ①外观:通过铅玻璃观察产品颜色和澄清度。②pH 值:以精密 pH 试纸测定 pH 值。③产品鉴定:取适量 ^{18}F -MK-6240,采用半衰期测定法(《中国药典》2020 年版第四部通则

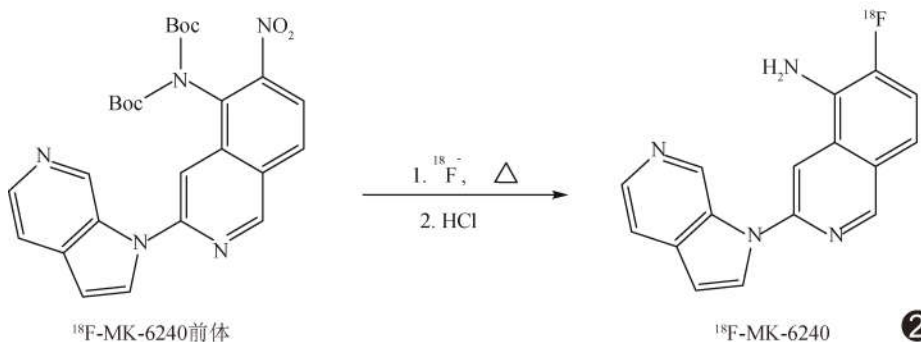


图 2 合成 ^{18}F -MK-6240 示意图 ^{18}F -MK-6240 前体与 $^{18}\text{F}^-$ 发生亲核反应,形成 ^{18}F 标记中间体 ^{18}F -MK-6240-Boc,经酸水解及 HPLC 分离后,以固相萃取获得 ^{18}F -MK-6240

1401^[10])测定核素半衰期,以分析型 HPLC 测定放射化学纯度,并与标准品 ^{18}F -MK-6240(1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$)进行对比;流动相为乙醇:0.05 mol/L 醋酸钠溶液=44:56(体积比),流速 0.8 ml/min,紫外线波长 254 nm。④无菌及内毒素:分别根据《中国药典》2020 年版第四部通则 1101 及 1143 进行无菌及细菌内毒素检查^[10]。⑤异常毒性:取 10 只小鼠,以 5 只为实验组,5 只为对照组;对实验组小鼠经尾静脉匀速注射 ^{18}F -MK-6240 0.5 ml(约

37 MBq)5 s,予对照组小鼠注射等量生理盐水,之后正常饲养并观察 48 h^[10]。⑥残留溶剂:采用碘铂酸钾方法监测 $\text{K}_{2.2.2}$,以气相色谱仪检测乙腈和 DMF 含量^[10]。
1.4 体外稳定性 采用分析型 HPLC 分别测定于室温下放置 1、2 及 4 h 的 296 MBq/ml ^{18}F -MK-6240 溶液的放射化学纯度,观察体外稳定性。
1.5 PET/CT 显像 采用联影 uMI Panaroma(35S) PET/CT 系统。对 2 例患者于经静脉注射 ^{18}F -MK-

6240 296 MBq 90 min 后采集图像。嘱患者仰卧,以头托固定其头部;先行 CT 扫描,管电压 120 kV,管电流 280 mAs,螺距 0.662 5,层厚 1 mm;之后行头部单床位 PET 扫描 10 min。采用有序子集最大期望值法(ordered subset expectation maximization, OSEM)及飞行时间(time of flight, TOF)技术重建图像,OSEM 重建迭代次数 7,子集 10,重建矩阵 256×256。

2 结果

2.1 自动化合成¹⁸F-MK-6240 成功基于 AllinOne 合成模块自动化合成¹⁸F-MK-6240,自加速器轰击结束至得到¹⁸F-MK-6240 产品耗时约 80 min;产品不校正合成效率为 20.74%±2.31%(合成次数 10),比活度为 (38.05±9.01)TBq/mmol(合成次数 10),即其稳定性和可靠性均较高。见图 3。

2.2 质量控制 ¹⁸F-MK-6240 产品无色、澄清,pH 值

5~7,核素半衰期 110 min,放射化学纯度>95%,放射性峰及紫外吸收峰达峰时间分别为 4.22 及 4.20 min,相对保留时间基本与标准品¹⁸F-MK-6240 一致(图 4);产品内毒素含量<15 EU/ml,14 天细菌培养显示无菌生长;2 组小鼠注射后 48 h 全部存活,未见异常毒性反应;产品 K_{2.2.2}含量<50 μg/ml,DMF 含量<0.088%,乙腈含量<0.041%。¹⁸F-MK-6240 产品符合《中华人民共和国药典》(2020 年版)要求。

2.3 体外稳定性 于室温下放置 1、2 及 4 h 后,¹⁸F-MK-6240 产品溶液放射性化学纯度均>90%(图 5),即其稳定性良好。

2.4 初步人体应用 患者 1¹⁸F-MK-6240 PET/CT 示双侧额叶、顶叶、颞叶及岛叶 tau 蛋白沉积,符合 AD 表现(图 6A)。患者 2¹⁸F-MK-6240 PET/CT 示颅内未见 tau 蛋白沉积(图 6B)。

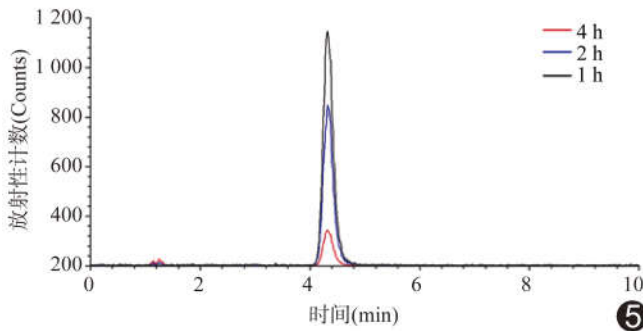
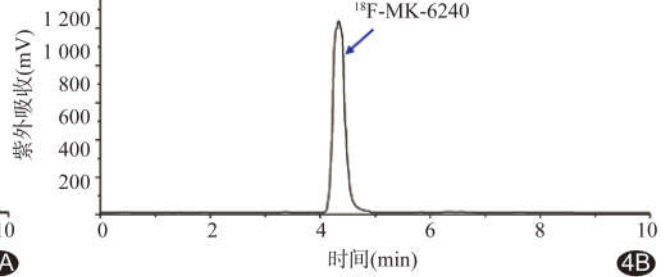
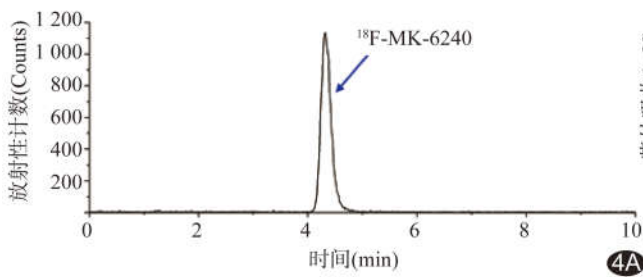
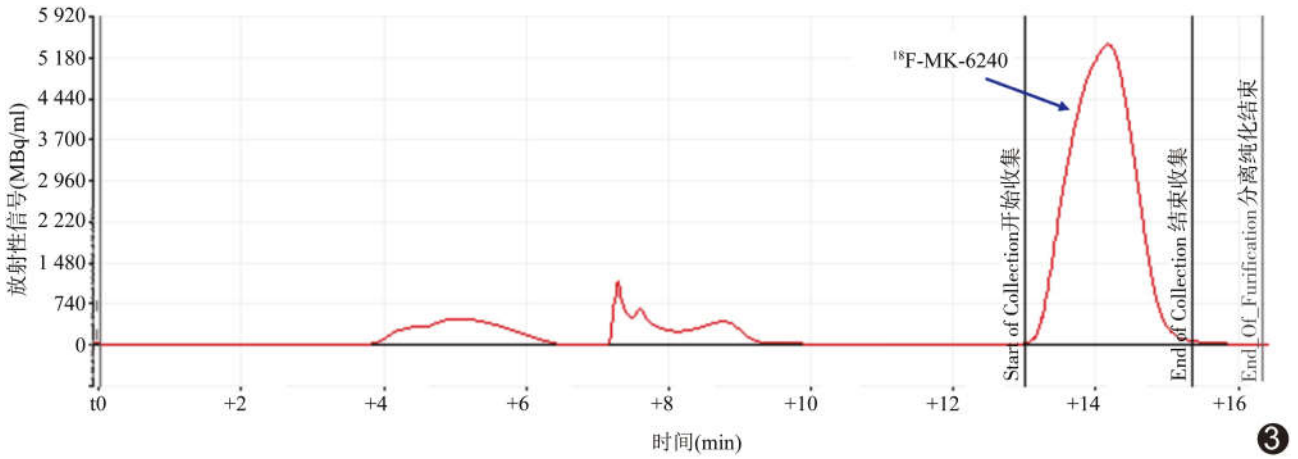


图 3 ¹⁸F-MK-6240 放射性半制备 HPLC 图谱 图 4 ¹⁸F-MK-6240 产品与标准品共进样 HPLC 图谱 A. 放射性图谱; B. 紫外图谱 图 5 ¹⁸F-MK-6240 体外稳定性分析图谱

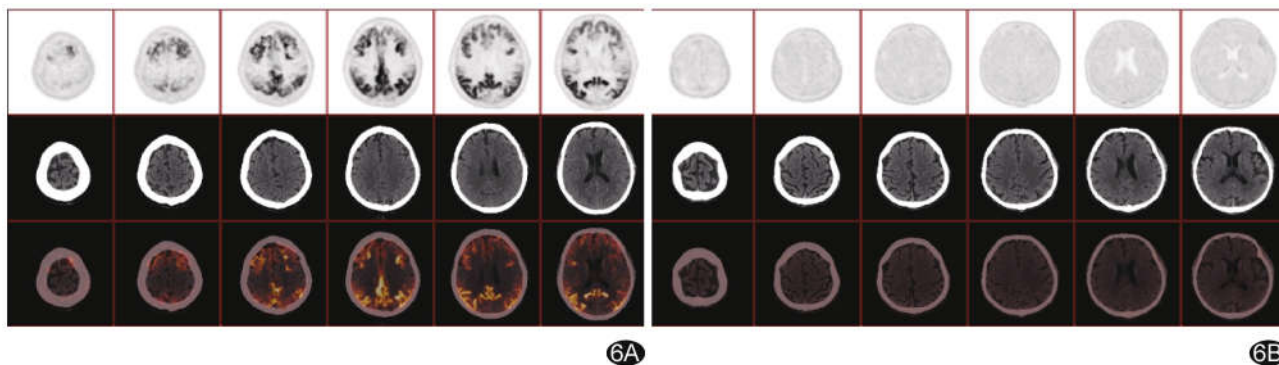


图 6 头部 ^{18}F -MK-6240 PET/CT 图 A. AD 患者,女,51 岁; B. 非 AD 认知障碍患者,男,64 岁

3 讨论

目前国内罕见合成 ^{18}F -MK-6240 的报道,而国外合成 ^{18}F -MK-6240 主要涉及模块多为 TRACERlab FX_{FN} 合成模块、IBA Synthera[®] 合成模块和 CFN-MPS200 多功能合成模块等。本研究基于 AllinOne 合成模块合成 ^{18}F -MK-6240,所获产品无色、澄清,pH 值为 5~7,放射化学纯度 $>95\%$,且其无菌检测、细菌内毒素检测、异常毒性检测、溶剂残留 DMF 和乙腈含量均符合 2020 版《中华人民共和国药典》标准,可满足临床及科研要求,有助于推动 ^{18}F -MK-6240 在国内的应用。

文献[7-9]报道,采用模块自动化合成 ^{18}F -MK-6240 时,不校正合成效率为 5.2%~18%。本研究基于 AllinOne 合成模块,采用“一锅二步法”,于同一个反应管内完成氟化标记反应和水解过程以合成 ^{18}F -MK-6240,不校正合成效率为 20.74% \pm 2.31%,高于上述报道,且合成过程稳定、快速、水解反应条件温和、自动化程度高。将所获产品用于对 1 例 AD 及 1 例非 AD 认知障碍患者行 ^{18}F -MK-6240 PET/CT 显像,扫描所见与临床及其他影像学检查所见相符,初步提示其具有临床应用价值。但本研究单次合成时间较长,达 80 min,为进一步缩短合成时间、提高效率,后续将优化 $^{18}\text{F}^-$ 除水干燥时间、中间体 ^{18}F -MK-6240-Boc 水解时间和半制备分离产物所用流速等合成条件,探索更适用于 AllinOne 合成模块的最佳合成 ^{18}F -MK-6240 方法。

综上所述,基于 AllinOne 合成模块可自动化合成 ^{18}F -MK-6240,产品质量合格;初步人体应用结果显示用于 AD 具有一定价值。

利益冲突:全体作者声明无利益冲突。

作者贡献:黄政海查阅文献、撰写和修改文章;任

超研究实施;吴美其图像处理和分析;张现忠指导和审阅文章;霍力研究设计、指导和审阅文章。

[参考文献]

- [1] BUSCHE M A, HYMAN B T. Synergy between amyloid- β and tau in Alzheimer's disease [J]. Nat Neurosci, 2020 23 (10): 1183-1193.
- [2] HIGUCHI M. Tau PET imaging [J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1184:217-230.
- [3] DANI M, EDISON P, BROOKS D J. Imaging biomarkers in tauopathies [J]. Parkinsonism Relat Disord, 2016, 22 (Suppl 1): S26-S28.
- [4] OKAMURA N, HARADA R, ISHIKI A, et al. The development and validation of tau PET tracers: Current status and future directions [J]. Clin Transl Imaging, 2018, 6 (4): 305-316.
- [5] UZUEGUNAM B C, LIBRIZZI D, HOOSHYAR YOUSEFI B. PET radiopharmaceuticals for Alzheimer's disease and Parkinson's disease diagnosis, the current and future landscape [J]. Molecules, 2020, 25 (4): 977.
- [6] 刘丰韬,鲁佳炎,丁正同,等.常见原发性 tau 蛋白病的 tau 蛋白 PET 脑显像技术操作规范及报告解读专家共识 [J]. 中国临床神经科学, 2022, 30 (6): 601-609.
- [7] COLLIER T L, YOKELL D L, LIVNI E, et al. cGMP production of the radiopharmaceutical [^{18}F] MK-6240 for PET imaging of human neurofibrillary tangles [J]. J Labelled Comp Radiopharm, 2017, 60 (5): 263-269.
- [8] HOPEWELL R, ROSS K, KOSTIKOV A, et al. A simplified radiosynthesis of [^{18}F] MK-6240 for tau PET imaging [J]. J Labelled Comp Radiopharm, 2019, 62 (2): 109-114.
- [9] TOYOHARA J, NISHINO K, SAKAI M, et al. Automated production of [^{18}F] MK-6240 on CFN-MPS200 [J]. Appl Radiat Isot, 2021, 168: 109468.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (2020 年版) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 118-198.