

# 肿瘤 PET 显像剂 O-(2-[<sup>18</sup>F]氟乙基)-L-酪氨酸的放射化学合成

王明伟<sup>1,2</sup> 尹端沚 汪勇先 李俊玲 张 岚 周 伟

1 (中国科学院上海应用物理研究所放射性药物研究中心 上海 201800)

2 (中国科学院研究生院 北京 100049)

**摘要** 放射性核素标记的氨基酸近年来已成为放射性药物领域的研究热点。O-(2-[<sup>18</sup>F]氟乙基)-L-酪氨酸([<sup>18</sup>F]FET)从问世以来一直备受关注,是一种很有希望的脑肿瘤 PET 显像剂。本文选择“两步法”合成了[<sup>18</sup>F]FET。首先,通过 1,2-二对甲苯磺酰基乙烷的[<sup>18</sup>F]氟化制备标记中间体,即烷基化试剂 2-[<sup>18</sup>F]氟乙基对甲苯磺酸酯;然后,L-酪氨酸的[<sup>18</sup>F]氟乙基化合成了目标化合物[<sup>18</sup>F]FET。总合成时间约为 50 min,放射化学产率为 20%—30% (未经衰变校正),放射化学纯度大于 98%。

**关键词** 氨基酸,酪氨酸,氟烷基化,O-(2-[<sup>18</sup>F]氟乙基)-L-酪氨酸,正电子发射断层显像,脑肿瘤  
中图分类号 O621.3

近年来,利用正电子发射断层显像(Positron emission tomography: PET)和单光子发射断层显像(Single photon emission computed tomography: SPECT)放射性标记的氨基酸已被用于正常脑组织和脑肿瘤的代谢研究<sup>[1,2]</sup>。在临床研究中,PET 显像剂 L-[甲基-<sup>11</sup>C]蛋氨酸(MET)已被用于脑损伤的代谢诊断,并且大量研究结果表明 MET-PET 可以准确确定肿瘤范围、探测肿瘤复发位置和区分脑肿瘤与非瘤损伤<sup>[3-5]</sup>。但是,<sup>11</sup>C 的短半衰期(20 min)使 MET-PET 的应用被限制在拥有加速器的几个 PET 中心。临床研究已表明,SPECT 示踪剂 L-3-[<sup>123</sup>I]碘- $\alpha$ -甲基-蛋氨酸(IMT)是诊断脑胶质瘤的有用的备选技术<sup>[6]</sup>。然而,由于 SPECT 的空间分辨率较差,IMT-SPECT 显像的诊断潜力明显低于相应的 PET 显像。为了克服上述诸核素标记的氨基酸的缺点,研究开发了半衰期较长的发射正电子的核素 <sup>18</sup>F (109.7 min) 标记的一系列氨基酸<sup>[7]</sup>。其中,O-(2-[<sup>18</sup>F]Fluoroethyl)-L-tyrosine ([<sup>18</sup>F]FET, 见图 1)

是最有应用前景的 <sup>18</sup>F 标记的氨基酸<sup>[8]</sup>。因为它在脑肿瘤患者身上进行的第一次临床 PET 研究结果和一系列动物实验结果都是令人鼓舞的<sup>[9-10]</sup>,并且 [<sup>18</sup>F]FET 和 [<sup>11</sup>C]MET 肿瘤患者体内的 PET 显像的初步比较结果显示出明显的肿瘤/脑比率 (Tumor-to-brain ratios: TBRs) 的相关性和脑内动力学的可比性<sup>[1]</sup>。

为此,本文采用氟烷基化方法合成了 [<sup>18</sup>F]FET,放射化学产率为 20%—30% (未经衰变校正),经 Sep-Pak Plus 硅胶柱分离后放射化学纯度大于 98%,总合成时间约为 50 min,可供进一步研究应用。

## 1 实验材料

### 1.1 试剂

K<sub>222</sub> (Kryptofix 222)、二甲亚砜、无水乙腈和对甲苯磺酰氯购自比利时 Acros 公司;2-氟乙醇和 1,2-二对甲苯磺酰基乙烷购自日本 Tokyo Chemical Industry CO., LTD.;L-酪氨酸购自吉尔生化(上海)有限公司;1-氟-2-溴乙烷由无锡市陆区助剂厂提供;氢氧化钠、三氯甲烷、二氯甲烷、吡啶和乙腈等其它试剂均为国产分析纯或光谱纯试剂(上海化学试剂公司)。

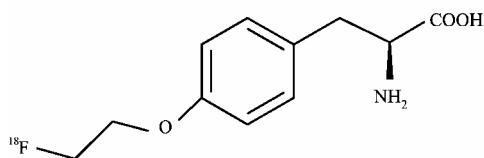


图 1 [<sup>18</sup>F]FET 的结构式

Fig. 1 Structure formula of [<sup>18</sup>F]FET

中科院知识创新工程重大项目资助(KJCX-SW-08)

第一作者:王明伟,男,1978年出生,2001年毕业于陕西师范大学,现为中国科学院上海应用物理研究所在读博士研究生

通讯作者:尹端沚, ydzh1945@sohu.com

收稿日期:2004-11-14,修回日期:2005-01-05

## 1.2 色谱系统

高效液相系统 Dionex P680 summit HPLC 分析系统(美国 Dionex 公司)配有 Bioscan flow-count detector (美国 Bioscan 公司); 条件 A: Vydac C18 柱, 直径为 2.5mm, 长度为 250 mm, 其中填料粒径为 10 $\mu$ m (日本, 岛津公司), 流动相:  $V_{\text{乙醇}}/V_{\text{水}}=50/50$ , 流速 1 mL/min, 紫外 254 nm 检测或放射性检测。条件 B: 柱型号同上, 流动相:  $V_{\text{乙醇}}/V_{\text{水}}/V_{\text{乙酸}}=10/87.5/2.5$ , 流速 1 mL/min, 紫外 254 nm 检测或放射性检测。

薄层色谱 条件 C: 层析硅胶 GF<sub>254</sub> 薄板(2.5 cm  $\times$  7.5 cm, 玻璃基片, 烟台汇友硅胶开发有限公司), ZF-2 型三用紫外灯显色(上海安亭电子仪器厂)或 Radio-TLC Scanner (Bioscan AR-2000), 各化合物的展开剂条件在文中另外注明。

Sep-Pak silica plus cartridge 柱购自美国 Waters 公司。

## 1.3 设备和仪器

旋风 30 型回旋加速器(比利时 IBA 公司); API2000 LC/MS/MS System 质谱分析仪 (Applied Biosystems Corp. USA); SN-697 全自动双探头放射免疫 $\gamma$ 计数器(中国科学院上海应用物理研究所日环光电仪器有限公司); FJ-391A2 型微机放射性活度计(北京核仪器厂)。

## 2 实验部分

### 2.1 化学合成

**2.1.1 2-氟乙基对甲苯磺酸酯** 6.87 g 对甲苯磺酰氯溶解在 30 mL 二氯甲烷中, 依次加入 1.72 mL 2-氟乙醇和 10 mL 吡啶后, 室温下搅拌, 反应 3—5 d

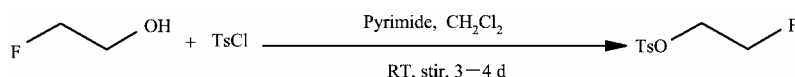


图 2 2-氟乙基对甲苯磺酸酯的合成路线

Fig. 2 The synthesis route of 2-fluoroethyl tosylate

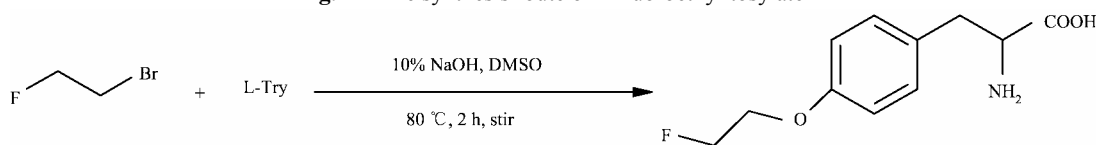


图 3 O-(2-[<sup>19</sup>F]氟乙基)-L-酪氨酸的合成路线

Fig. 3 The synthesis route of O-(2-[<sup>19</sup>F]fluoroethyl)-L-tyrosine

(见图 2) 反应混合物先经二氯甲烷稀释, 再用 5% 盐酸(3 次)和生理盐水依次洗涤, 收集有机层, 硫酸镁干燥, 旋转蒸发去除溶剂, 真空蒸干所得的油状物质即为 2-氟乙基对甲苯磺酸酯。  $t_R=9.0$  min (条件 A);  $R_f=0.35$  (条件 C, 展开剂: 100%三氯甲烷); MS (EI)  $m/z$  (%) 218 ( $M^+$ , 45.7), 219 ( $M+1$ , 4.3), 185 (7.8), 155 (100), 91 (89.4), 71 (18), 57 (18)。

**2.1.2 O-(2-[<sup>19</sup>F]氟乙基)-L-酪氨酸** 1.8 g L-酪氨酸溶于 4 mL 20%氢氧化钠溶液, 加入内有 12 mL 二甲亚砜的梨形反应瓶中, 置于 80 油浴中加热; 搅拌下加入 0.75 mL 1-氟-2-溴乙烷(见图 3); 2 h 后反应混合物立即倒入粗冰中, 调节 pH 值为 7.5; 过滤沉淀物, 水洗两次, 真空中干燥; 粗产品经 60% 乙酸溶液重结晶得到的白色针叶状物质即为 O-(2-[<sup>19</sup>F]氟乙基)-L-酪氨酸。  $t_R=4.2$  min (条件 B);  $R_f=0.06$  (展开剂:  $V_{\text{乙醇}}/V_{\text{水}}=95/5$ ); MS (EI)  $m/z$  (%) 228 ( $M+1$ , 0.7), 227 (5.1), 182 (10.9), 154 (13.9), 153 (100), 134 (6.4), 107 (92.3), 91 (9.5), 77 (20.2), 74 (5.3), 47 (4.6)。

## 2.2 放射化学合成

**2.2.1 [<sup>18</sup>F]氟离子的生产** 采用  $^{18}\text{O}(p, n)^{18}\text{F}$  核反应, 应用小体积(1.5 mL)  $\text{H}_2\text{O}[^{18}\text{O}]$  富氧水(95%)靶, 在回旋加速器上用 16.5 MeV、25  $\mu$ A 的质子束流连续轰击 60 min, 得到反应所需要的 [<sup>18</sup>F]氟离子富氧水溶液。

**2.2.2 2-[<sup>18</sup>F]氟乙基对甲苯磺酸酯** 100  $\mu$ L 约 1.85 GBq 的 [<sup>18</sup>F]氟离子富氧水溶液加入含有 10 mg  $\text{K}_2\text{CO}_3$  和 1 mg 碳酸钾的 5 mL 螺口锥形瓶内, 85—90 油浴中加热, 连续通入氮气, 吹干水份; 再加入 500  $\mu$ L

乙腈, 通气吹干, 重复三次, 保证反应体系彻底无水。5—10 mg 1, 2-二对甲苯磺酸基乙烷的无水乙腈 (500  $\mu$ L) 溶液加入到上述反应瓶内, 密闭, 85—90 油浴中反应 5—10 min (图 4)。冷却后, 反应混合物经放射性薄层色谱 (radio-TLC) 扫描分析, 标记率为 (90 $\pm$ 2)% (图 5; 条件 C, 展开剂: 100% 三氯甲烷)。然后, 反应混合物被转移到经三氯甲烷预饱和处理过的 Sep-Pak Plus 硅胶柱上, 三氯甲烷淋洗, 得到含有标记中间体 2-[ $^{18}$ F]氟乙基对甲苯磺酸酯的淋洗液, 收集于另一个螺口锥形瓶内。淋洗

液经 Radio-TLC 分析,  $R_f = 0.36$  (条件 C, 展开剂: 100% 三氯甲烷); 放射性高效液相 (radio-HPLC) 分析 (条件 A), 保留时间为 8.8 min。

**2.2.3 O-(2-[ $^{18}$ F]氟乙基)-L-酪氨酸** 加热状态下吹干上述含有 2-[ $^{18}$ F]氟乙基对甲苯磺酸酯的反应瓶, 向其中加入 9.1 mg L-酪氨酸、40  $\mu$ L 10% 氢氧化钠溶液和 500  $\mu$ L DMSO, 密闭反应瓶, 置于 90 油浴中反应 15—20 min。冷却到室温, 反应混合物经 Radio-TLC 扫描分析, 烷基化产率为 (93 $\pm$ 3)% (见图 6; 条件 C, 展开剂:  $V_{\text{乙腈}}/V_{\text{水}} = 95/5$ )。然后,

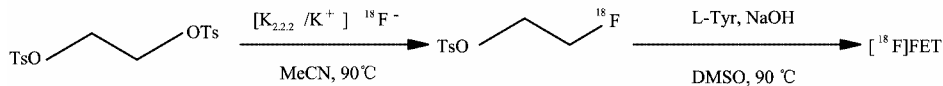


图 4 [ $^{18}$ F]FET 的两步合成法

Fig. 4 A two-step route of synthesis of [ $^{18}$ F]FET

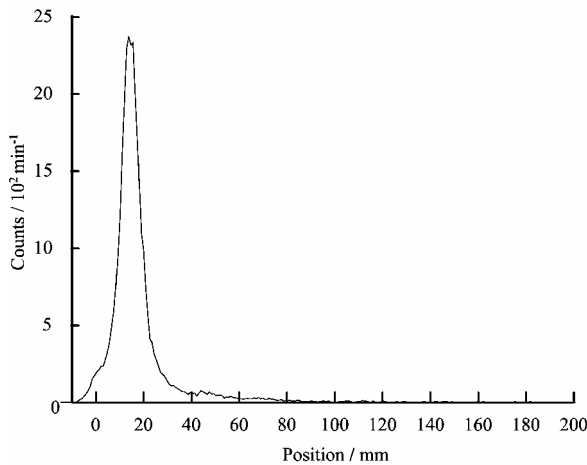


图 5 第一步反应混合物的放射性扫描薄层色谱图

Fig. 5 The radio-TLC of the reaction mixture in the first step

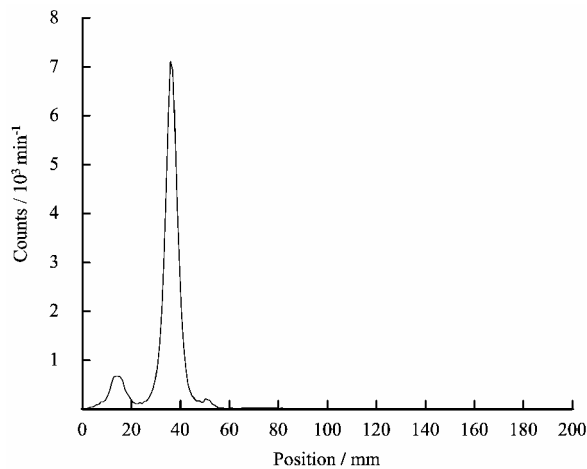


图 6 第二步反应混合物的放射性扫描薄层色谱图

Fig. 6 The radio-TLC of the reaction mixture in the second step

反应混合物被转移到 Sep-Pak Plus 硅胶柱上, 依次用三氯甲烷和磷酸缓冲盐溶液 (PBS, pH 7.4) 淋洗; 收集 PBS 洗脱液得到含有目标产物 [ $^{18}$ F]FET 的溶液。淋洗液经 Radio-TLC 分析,  $R_f = 0.06$  (条件 C, 展开剂:  $V_{\text{乙腈}}/V_{\text{水}} = 95/5$ ); radio-HPLC 分析 (条件 B), 保留时间为 4.6 min; 放化纯度均大于 98%。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 化学合成

根据文献[11]合成了非放射性的中间体 2-[ $^{19}$ F]氟乙基对甲苯磺酸酯[12]和目标产物 O-(2-[ $^{19}$ F]氟乙基)-L-酪氨酸, 作为对应的放射性产物的参比物。前者的合成是典型的醇与酰氯合成酯的反应, 有多种途径, 本文选择了一种温和的反应条件, 通过简单的萃取达到分离纯化的目的。由于 L-酪氨酸的分子结构中含有两个具有反应活性的羟基 (酚羟基和羧酸内羟基), 因此后者的合成是一个位置选择性反应。在碱性条件下, 选择 DMSO 为溶剂, 未保护的 L-酪氨酸与 1-氟-2-溴乙烷之间的烷基化反应就有选择性地发生在酚羟基的位置, 生成对应的醚, 即目标产物 O-(2-[ $^{19}$ F]氟乙基)-L-酪氨酸。该反应条件温和, 后续分离纯化过程简单。

#### 3.2 放射化学合成

目前, [ $^{18}$ F]FET 的合成方法有直接亲核放射氟化和直接放射性氟烷基化两种。Hamacher 等首先报道了 [ $^{18}$ F]FET 的直接亲核放射氟化合成法, 即基于复杂的前体化合物, 采用“一锅法”合成了 [ $^{18}$ F]FET, 放化产率为 55%—60%[13]。但是, 该法后续的脱保

护和 HPLC 分离纯化过程延长了总合成时间, 并没使整个合成过程得以简化。一般地, [<sup>18</sup>F]FET 的合成是通过 L-酪氨酸二钠盐的氟烷基化进行的<sup>[8,14]</sup>, 然而, 利用该法还没有实现在较短总合成时间内、采用比较简便的分离纯化方式获得较高的放射化学产率。

文中 [<sup>18</sup>F]FET 的合成是一个两步反应, 包括 1, 2-二对甲苯磺酸基乙烷的 [<sup>18</sup>F]氟化和 L-酪氨酸的 [<sup>18</sup>F]氟乙基化 (图 4), 是目前合成 [<sup>18</sup>F]FET 最常用的方法<sup>[8, 14—16]</sup>。烷基化反应需要选择合适的烷基化试剂, 而该方法所选用的标记中间体 2-[<sup>18</sup>F]氟乙基对甲苯磺酸酯正是 PET 示踪剂标记领域中使用很广的 O-、N-和 S-氟烷基化试剂<sup>[8,17—19]</sup>。其优点是: (a) 制备容易, (b) 稳定性好, (c) 应用广泛<sup>[19]</sup>。它的制备, 文中采用的是在相转移催化剂 K<sub>2.2.2</sub> 存在下, 1, 2-二对甲苯磺酸基乙烷直接与无载体的 [<sup>18</sup>F]氟离子发生的亲核取代反应。该制备过程的关键是 [<sup>18</sup>F]氟离子的无水化处理 (通常是在加热状态下连续通入氮气, 适量乙腈分加入两到三次, 然后吹干即可实现), 因为在常见的亲核基团中 [<sup>18</sup>F]氟离子的亲核性是较弱的, 反应体系中微量水的存在会极大地降低标记率。

[<sup>18</sup>F]氟的半衰期 (109.7 min) 是常用正电子核素中最长的, 但是它标记的放射性药物的合成仍应在较短时间内完成, 所以文中 [<sup>18</sup>F]FET 的分离纯化没有选择繁琐耗时的 HPLC, 而采用了简便省时的 Sep-Pak 柱。国外有关 [<sup>18</sup>F]FET 合成的报道, 采用的不管是“一锅法”的直接亲核放射氟化<sup>[13]</sup>还是“两步法”的直接放射性氟烷基化<sup>[8]</sup>, 最终的分离纯化手段均是 HPLC 和阳离子柱或硅胶柱的合用, 虽然放射化学产率较高, 但是总合成时间偏长, 也不利于自动化合成。国内均是采用“两步法”的直接放射性氟烷基化<sup>[14—16]</sup>, 虽然分离纯化方式都是 Sep-Pak 柱 (单个的或串连的), 但放射化学产率都很低 (<10%), 可能是由于乙腈沉淀法沉淀不完全所致。探索了 [<sup>18</sup>F]FET 的分离纯化方法之后, 我们选择的条件是: 使用单个的 Sep-Pak Plus 硅胶柱, 先用三氯甲烷淋洗除去可能的没有反应的标记中间体或副产物, 再用 PBS 淋洗。最终, 在 50 min 内合成了 [<sup>18</sup>F]FET, 放射化学纯度大于 98%, 放射化学产率为 20%—30%。

致谢 感谢安盛科兴药业公司为本实验提供关键原料之一即放射性核素 [<sup>18</sup>F]氟。

## 参考文献

- 1 Weber W A, Wester H J, Grosu A L, *et al.* Eur J Nucl Med, 2000, **27**: 542—549
- 2 Jager P L, Vaalburg W, Pruijm J, *et al.* J Nucl Med, 2001, **27**: 542—549
- 3 Derlon J M, Bourdet C, Bustany P, *et al.* Neurosurgery 1989, **25**: 720—728
- 4 Ogawa T, Shishido F, Kanno I, *et al.* Radiology, 1993, **186**: 45—53
- 5 Herholz K, Holzer T, Bauer B, *et al.* Neurology, 1998, **50**: 1316—1322
- 6 Langen K J, Pauleit D, Coenen H H. Nucl Med Biol, 2002, **29**: 625—631
- 7 Laverman P, Boerman O C, Corstens F H, *et al.* Eur J Nucl Med, 2002, **29**: 681—690
- 8 Wester H J, Herz M, Weber W, *et al.* J Nucl Med, 1999, **40**: 205—212
- 9 Messing-Ju'nger A M, Floeth F W, Pauleit D, *et al.* Childs Nerv Syst. 2002, **18**: 445—449
- 10 Pauleit D, Langen K J, Floeth F, *et al.* J Nucl Med, 2002, **43** (suppl): 112
- 11 Solar S L, Schumaker R R. J Org Chem, 1966, **31**: 1996—1997
- 12 Childs A F, Goldsworthy L J, Harding G F, *et al.* J Chem Soc, 1948, 2174—2177
- 13 Hamacher K, Coenen H H. Appl Radiat Isot, 2002, **57**: 853—856
- 14 TANG Ganghua, WANG Mingfang, TANG Xiaolan, *et al.* Asia J Nucl Med, 2002, **2**: 90—92
- 15 党永红, 王世真, 程欣, 等. 中国医学科学院学报, 2002, **24**: 370—372
- 16 DANG Yonghong, WANG Shizhen, CHENG Xin, *et al.* Acta Acad Med Sin, 2002, **24**: 370—372
- 17 朴日阳, 崔瑞雪, 杜宜奎, 等. 中华核医学杂志, 2000, **20**: 272—273
- 18 PIAO Riyang, CUI Ruixue, DU Yikui, *et al.* Chin J Nucl Med, 2000, **20**: 272—273
- 17 Block D, Coenen H H, St.ocklin G. J Label Compd Radiopharm, 1987, **24**: 1029—1042
- 18 Block D, Coenen H H, St.ocklin G. J Label Compd Radiopharm, 1988, **25**: 201—215
- 19 Chin F T, Musachio J L, Cai L, *et al.* J Label Compd Radiopharm, 2003, **46**: S172

## Radiochemical synthesis of O- ( 2-[<sup>18</sup>F]fluoroethyl ) -L-tyrosine as PET imaging agent for tumor diagnosis

WANG Mingwei<sup>1,2</sup> YIN Duanzhi WANG Yongxian LI Junling ZHAN Lan ZHOU Wei

*1 ( Shanghai Institute of Applied Physics, the Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China )*

*2 ( Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China )*

**Abstract** Radiolabelled amino acids have been the interesting field of radiopharmaceuticals for several years, of which O- ( 2-[<sup>18</sup>F]fluoroethyl ) -L-tyrosine is very promising as PET imaging agent for tumor diagnosis. [<sup>18</sup>F]FET was synthesized via a two-step reaction consisting of [<sup>18</sup>F]fluorination of 1, 2-bis ( tosyloxy ) ethane for preparing the alkylating agent 2-[<sup>18</sup>F]fluoroethyltosylate and [<sup>18</sup>F]fluoroethylation of L-tyrosine for obtaining the objective [<sup>18</sup>F]FET. The synthesis was typically finished in less than 50 min with overall radiochemical yields of 20%—30% ( without decay correction ) and radiochemical purity more than 98%.

**Key words** Amino acids , L-tyrosine , Fluoroalkylation , FET , PET , Brain tumor

**CLC** O621.3