

N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼的制备及其在类风湿关节炎显像中的研究

周义翔¹ 严格² 潘栋辉² 徐宇平² 严骏杰² 王辛宇² 杨敏²

¹南京医科大学第一临床医学院, 南京 210003; ²国家卫生健康委员会核医学重点实验室、江苏省分子核医学重点实验室、江苏省原子医学研究所, 无锡 214063

通信作者: 杨敏, Email: yangmin@jsinm.org

【摘要】 目的 制备探针 N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼, 探讨其用于类风湿关节炎 (RA) 诊疗的可行性。方法 采用“两步法”对托法替尼进行 ^{18}F -氟乙基修饰, 应用高效液相色谱 (HPLC) 对探针的标记率和放化纯进行测定, 并考察探针的体内外稳定性。BALB/c 小鼠 (正常组; $n=3$) 和胶原诱导型关节炎 (CIA) 模型鼠 (实验组; $n=3$) 注射 N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼, 另设阻断组 (CIA 模型鼠注射托法替尼 + N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼; $n=3$), 3 组小鼠行 microPET 显像, 观察关节炎性反应部位对 N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼的摄取情况, 计算每克组织百分注射剂量率 (%ID/g) 及关节/肌肉 (T/M) 比值。采用单因素方差分析和最小显著差异 t 检验分析数据。结果 N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼的合成时间约为 120 min, 产率约 1%, 比活度 >13.6 GBq/ μmol , 放化纯 $>99\%$ 。探针在 PBS、血浆和体内温育 2 h 后, 放化纯仍大于 95%。MicroPET 显像示, 注射后 30 min, N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼在 CIA 模型鼠关节部位的摄取高于正常组和阻断组 [(10.22 \pm 1.64)、(2.71 \pm 0.26) 和 (2.81 \pm 0.33) %ID/g; $F=58.26$, t 值: 7.83、7.67, P 值: 0.001、0.002]; T/M 比值也高于正常组和阻断组 (24.73 \pm 5.77、2.75 \pm 1.36 和 2.89 \pm 0.54; $F=40.64$, t 值: 6.42、6.53, P 值: 0.003、0.003)。结论 成功制备了探针 N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼, 其体内外稳定性佳, 体内显像性能良好, 具有较好的临床应用前景。

【关键词】 关节炎, 类风湿; 哌啶类; 蛋白激酶抑制剂; Janus 激酶 1; 化学技术, 合成; 正电子发射断层显像术; 小鼠

基金项目: 江苏省医学创新团队项目 (CXTDA2017024)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20210728-00253

Preparation of N - ^{18}F -fluoroethyl-tofacitinib and its application in the imaging of rheumatoid arthritis

Zhou Yixiang¹, Yan Ge², Pan Donghui², Xu Yuping², Yan Junjie², Wang Xinyu², Yang Min²

¹The First Clinical School of Nanjing Medical University, Nanjing 210003, China; ²NHC Key Laboratory of Nuclear Medicine, Jiangsu Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Wuxi 214063, China

Corresponding author: Yang Min, Email: yangmin@jsinm.org

【Abstract】 **Objective** To synthesize N - ^{18}F -fluoroethyl-tofacitinib, and explore its feasibility in the diagnosis of rheumatoid arthritis (RA). **Methods** The "two-step method" was used to modify tofacitinib with ^{18}F -fluoroethyl, and the labeling rate and radiochemical purity of the probe were measured by high performance liquid chromatography (HPLC), and the stabilities of the probe *in vivo* and *in vitro* were investigated. BALB/c mice (normal group; $n=3$) and collagen-induced arthritis (CIA) model mice (CIA group; $n=3$) were injected with N - ^{18}F -fluoroethyl-tofacitinib and CIA model mice injected with tofacitinib and N - ^{18}F -fluoroethyl-tofacitinib were as blocking group ($n=3$). All mice underwent microPET imaging and the percentage injection dose per gram of tissue (%ID/g) and the uptake ratio of inflamed joints to muscle (T/M) were calculated. One-way analysis of variance and the least significant difference (LSD) t test were used to analyze the data. **Results** The synthesis time of N - ^{18}F -fluoroethyl-tofacitinib was about 120 min, with the yield approximately 1%, the specific activity >13.6 GBq/ μmol , and the radiochemical purity $>99\%$. After the probe incubated with PBS, plasma or *in vivo* for 2 h, the radiochemical purity was still more than 95%. MicroPET imaging showed that 30 min after injection, the uptake of N - ^{18}F -fluoroethyl-tofacitinib in the inflamed joints of CIA group was higher than that of normal group and blocking group ((10.22 \pm 1.64), (2.71 \pm 0.26) and (2.81 \pm 0.33) %ID/g; $F=58.26$, t values: 7.83, 7.67, P values: 0.001, 0.002). The T/M of CIA group was also higher than that of normal group and blocking group (24.73 \pm 5.77, 2.75 \pm 1.36 and 2.89 \pm 0.54; $F=40.64$, t values: 6.42, 6.53, P values: 0.003, 0.003). **Conclusions** N - ^{18}F -fluoroethyl-tofacitinib is successfully prepared and it is stable *in vitro* with good imaging performance *in vivo*. It may be used

in clinic for the diagnosis of RA.

【Key words】 Arthritis, rheumatoid; Piperidines; Protein kinase inhibitors; Janus kinase 1; Chemistry techniques, synthetic; Positron-emission tomography; Mice

Fund program: Jiangsu Provincial Medical Innovation Team (CXTDA2017024)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20210728-00253

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种慢性炎性关节疾病,全世界患病率为 0.5%^[1-2]。目前临床评估 RA 疗效主要基于视觉评分,但该法灵敏度较差,不利于早期诊断和疗效评判^[3]。活组织检查 (简称活检) 是 RA 诊断的“金标准”,但其有创,无法动态实时评估疾病的进展及疗效。PET 是临床应用成熟的分子影像技术,具有无创、痕量、空间分辨率优、灵敏度高、定量、全身评价等优势,可从分子水平上反映 RA 的生理病理代谢等变化^[4-5]。

托法替尼是 Janus 激酶 (Janus kinase, JAK) 抑制剂,可有效抑制 JAK1 和 JAK3 的活性,阻断 JAK-转录信号转导剂和激活剂 (signal transducer and activator of transcription, STAT) 通路的信号传递,已被美国食品与药品监督管理局批准用于治疗 RA。本研究以托法替尼为母体,对其进行¹⁸F-氟乙基修饰,获得新型探针 *N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼,并应用动物模型 microPET 显像考察该探针用于 RA 显像的可行性。

材料与方法

1. 材料与仪器。1, 2-双甲苯氧基乙烷 (日本东药化成工业株式会社); 无水乙腈 (美国 Sigma-Aldrich 公司); 托法替尼 (美国 MedChemExpress 公司); 弗氏完全佐剂 (美国 ChronoDex 公司); 高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 仪、紫外波长检测器 (美国 Waters 公司); 回旋加速器 (日本住友公司); 放射性检测器 (德国 Perkin Elmer 公司); Reacti-Therm 加热和搅拌模块 (美国 Thermo Scientific 公司); 反相 C18 柱 (广州菲罗门科学仪器有限公司); microPET 显像仪 (德国 Siemens 公司)。

2. 实验动物。DBA/1 雄鼠 6 只, 8~10 周龄, 体质量 (20±2) g, 购自上海斯莱克实验动物有限公司; BALB/c 雌鼠 6 只, 6~8 周龄, 体质量 (20±2) g, 购自常州卡文斯实验动物有限公司。所有小鼠均无特殊病原体 (specific-pathogen free, SPF) 级环境中饲养, 动物实验经江苏省原子医学研究所伦理委员会批准 (JSINM-2021-012)。实验动物许可批件号: JSINM-0025; 实验动物使用许可证号: SYXK (苏)2019-0025。

3. 胶原乳剂制备。纯水 (2 ml) 中加入乙酸 (12 μg,

0.2 mmol) 配制成 0.1 mol/L 乙酸溶液。取 4 mg Ⅱ型胶原加入乙酸溶液中配制成胶原溶液, 4 °C 过夜。次日, 取相同体积的胶原溶液和弗氏完全佐剂混合, 于冰上充分乳化, 配制成胶原乳剂^[6]。

4. 胶原诱导关节炎 (collagen induced arthritis, CIA) 模型构建。取 100 μl 胶原乳剂于 DBA/1 鼠尾根部多点注射; 第 21 天, 取 100 μl 胶原乳剂于小鼠左足多点注射。参照文献^[7], 以后足厚度、关节炎指数 (arthritis index, AI) 评分及病理切片为炎性反应指标, 评价模型关节炎的进展情况。

5. 病理学实验。分别取 CIA 模型鼠和 BALB/c 小鼠各 1 只, 脱颈处死, 取距跟关节, 于质量分数 4% 多聚甲醛固定液中固定 48 h 后, 用质量分数 15% 乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) 脱钙液 30 °C 脱钙 16 d, 石蜡包埋后, 切成 5 μm 切片用于 HE 染色。

6. *N*-¹⁹F-氟乙基-托法替尼的制备。1, 2-双甲苯氧基乙烷 (5 mg, 0.013 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (tetrahydrofuran, THF) 中, 在 50 °C 下与四丁基氟化铵 (tetrabutylammonium fluoride, TBAF; 3.5 mg, 0.013 mmol) 反应 60 min。反应结束后, 分别用二氯甲烷和纯水对反应物进行萃取, 取下层液体, 无水硫酸钠干燥后用旋蒸仪蒸干溶剂, 得到中间产物。无水乙腈溶解后, 加入托法替尼 (4.1 mg, 0.013 mmol)、三乙胺 (triethylamine, TEA; 100 μl, 0.65 mmol) 50 °C 反应过夜。产物用半制备型 HPLC 进行纯化, 制得 *N*-¹⁹F-氟乙基-托法替尼, 并用液相色谱 (liquid chromatography, LC)-质谱 (mass spectrometry, MS) 表征。半制备型 HPLC 条件: 流动相 A: 纯水+体积分数 0.1% 三氟乙酸 (trifluoroacetic acid, TFA); 流动相 B: 无水乙腈+体积分数 0.1% TFA, A:B=50:50, 流速: 5 ml/min。

7. *N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼的制备 (图 1)。K¹⁸F/穴醚 (K₂₂₂) 的水溶液 (11.1 GBq) 转移至反应瓶中, 利用乙腈共沸除水, 重复 2 次, 直至吹干。在干燥的 K¹⁸F/K₂₂₂ 中加入 1, 2-双甲苯氧基乙烷 (2 mg, 6 μmol) 的无水乙腈溶液 (500 μl), 反应混合物在 104 °C 下密封反应 10 min。冷却、硅胶柱纯化后, 用无水乙腈淋洗至新试剂瓶中, 干燥除水。后加入含托法替尼 (2 mg, 6 μmol) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺溶液 (500 μl) 和碳酸钾 (9.1 mg, 0.07 mmol), 密封并于 100 °C 下

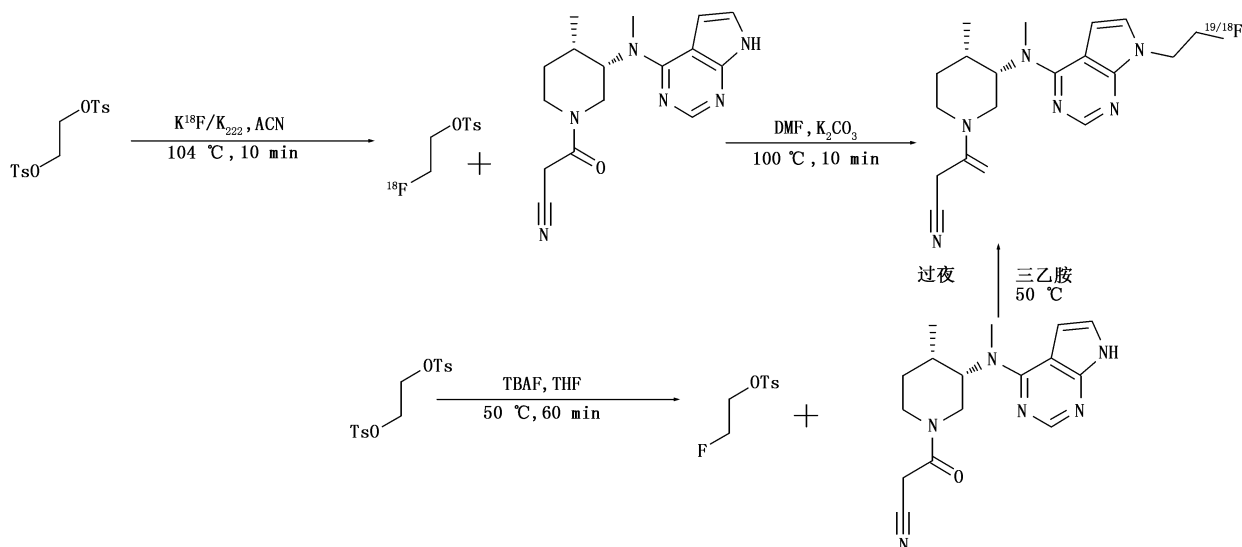


图 1 N - $^{19/18}\text{F}$ -氟乙基-托法替尼合成图。ACN 为乙腈,DMF 为 N,N -二甲基甲酰胺, K_{222} 为穴醚,TBAF 为四丁基氟化铵,THF 为四氢呋喃

反应 10 min。

8. N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼的纯化。反应产物用半制备型 HPLC 进行纯化,条件同上。收集流份,去离子水稀释后,用活化的 C18 柱富集。乙醇淋洗后,加入注射用水,无菌滤膜过滤后用于 PET 显像。

9. N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼的质量控制(简称质控)。应用分析型 HPLC 对 N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼进行质控。流动相 A:纯水+体积分数 0.1% TFA;流动相 B:无水乙腈+体积分数 0.1% TFA, A : B = 50 : 50,流速:1 ml/min。

10. 体外稳定性研究。取 4.92 MBq N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼溶液,分别与人血浆和 PBS 于 37 °C 温育,定期取样检测放化纯。PBS 直接进样分析型 HPLC 进行分析,血浆与等量乙腈混合,室温离心(速率 10 000 r/min,离心半径 4 cm)30 s 并收集上清液,通过 0.22 μm 滤膜过滤后,用分析型 HPLC 进行质控。HPLC 条件同上。

11. 体内稳定性研究。取 3 只 BALB/c 小鼠,分别注射 24 MBq N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼,并分别于注射后 0、60 和 120 min 进行眼眶采血。血液与无水乙腈等量混合、离心(条件同上)并收集上清液,通过 0.22 μm 滤膜过滤后,用分析型 HPLC 进行质控。HPLC 条件同上。

12. MicroPET 显像。取 CIA 模型鼠(实验组)和 BALB/c 小鼠(正常组)各 3 只,经尾静脉注射生理盐水稀释的 N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼(200 μl , 1.85 MBq),分别于注射后 30、60 和 120 min 进行 10 min 静态扫描。另取 3 只 CIA 模型鼠,注射 1 mg 托法替尼进行阻断(阻断组):注射托法替尼(600 μg /只)30 min

后,3 只 CIA 鼠均注射 6.29 MBq N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼,分别于注射后 30、60 和 120 min 进行 10 min 静态扫描。采用有序子集最大期望值迭代法进行三维重建。使用 ASIProStub Application 软件对炎症反应关节部位及主要器官勾画 ROI,计算每克组织百分注射剂量率(percent injection dose per gram of tissue, %ID/g)和关节(joint, T)/肌肉(muscle, M)比值。

13. 统计学处理。采用 GraphPad Prism 8.3 软件进行统计分析。符合正态分布的定量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用最小显著差异 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. N - ^{19}F -氟乙基-托法替尼的制备。MS 测得 N - ^{19}F -氟乙基-托法替尼的相对分子质量为 359.2 ($M+H$),与理论计算相对分子质量(358.41)一致,表明 N - ^{19}F -氟乙基-托法替尼制备成功。合成时间约为 120 min,比活度 $> 13.6 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$,放化纯 $> 99\%$,产率约为 1%,Log P 为 1.6。

2. 稳定性研究。分析型 HPLC 示, N - ^{18}F -氟乙基-托法替尼在 PBS、血浆和体内放置 2 h 后,放化纯仍然大于 95%。

3. CIA 模型的制备及评价。CIA 小鼠于初次免疫后第 24 天出现关节肿胀,由左后足趾间关节蔓延至踝关节。初次免疫后第 30 天,CIA 小鼠开始出现行动不便,于第 36 天到达高峰期。病理切片显示,CIA 鼠距跟关节有明显的骨质破坏、滑膜增生及免疫细胞浸润(图 2)。

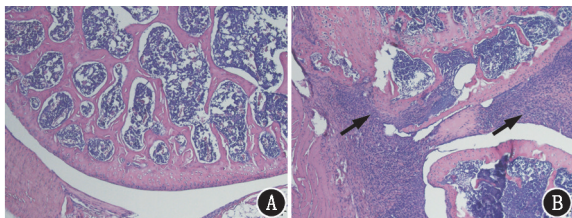


图2 正常鼠与胶原诱导关节炎(CIA)鼠的距跟关节 HE 染色图($\times 10$)。A.正常鼠关节,滑膜厚度正常,关节骨质完好,无免疫细胞浸润;B. CIA 鼠关节,滑膜增厚,骨质破坏,免疫细胞浸润(箭头示)

4. MicroPET 显像。注射后 30、60 和 120 min, 实验组 $N\text{-}^{18}\text{F}$ -氟乙基-托法替尼在关节部位的摄取均高于正常组(t 值: 7.83、6.67、9.71, P 值: 0.001、0.003、0.001)和阻断组(t 值: 7.67、7.12、9.92, P 值: 0.002、0.002、0.001); 实验组 T/M 比值也均高于正常组(t 值: 6.42、11.77、3.62, P 值: 0.003、 <0.001 、0.022)和阻断组(t 值: 6.53、9.33、2.93, P 值: 0.003、0.001、0.043; 表 1)。各组小鼠不同时间点的显像图见图 3, $N\text{-}^{18}\text{F}$ -氟乙基-托法替尼注射后 30、60、120 min, 实验组、正常组和阻断组的关节部位均有摄取, 而肝摄取均下降。

讨 论

临床研究发现, JAK-STAT 通路参与滑膜成纤维

细胞和破骨细胞的激活, 导致关节受损和骨质破坏^[8]。在 RA 的发病过程中, 胞外细胞因子[如白细胞介素(interleukin, IL)、干扰素等]与跨膜受体相结合, 引发受体二聚化; 胞内 ATP 进入 JAK 中的 ATP 结合位点, 并启动磷酸化, 受体的磷酸化也随之进行。受体催化结构域上的酪氨酸残基被磷酸化后, 与周围氨基酸形成对接位点, 使 STAT 蛋白被招募到对接位点。STATs 被磷酸化并激活形成二聚体, 被转移到细胞核中, 通过结合特定的 DNA 元件来调控基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)和核因子 κB 受体活化因子配体(receptor activator for nuclear factor- κB ligand, RANKL)的表达^[9]。因此, JAK 是临床 RA 的标志物。

替尼, 即酪氨酸激酶抑制剂, 是一种小分子蛋白激酶抑制剂, 可以阻断一种或多种蛋白激酶。目前, 有多个替尼类药物被用于核素标记以开发正电子或单光子探针, 如吉非替尼和阿法替尼的结构中含有 F, 将 ^{19}F 替换为 ^{18}F 的方案对药物结构的影响最小, 可最大限度保留其原本的药效^[10-11]; 埃克替尼和厄洛替尼因其结构中含有炔基, 可通过氟化前体的叠氮基团和炔基进行环加成反应合成 ^{18}F -氟乙基叠氮-厄洛替尼^[12] 和 ^{18}F -氟乙基叠氮-埃克替尼^[13]。

托法替尼是一种针对 JAK1/JAK3 的小分子抑

表 1 不同组别小鼠注射后不同时间 $N\text{-}^{18}\text{F}$ -氟乙基-托法替尼在关节部位的摄取值和 T/M 比值的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	不同时间点的摄取值(%ID/g)			不同时间点的 T/N 比值		
	30 min	60 min	120 min	30 min	60 min	120 min
正常组	2.71 \pm 0.26	3.66 \pm 0.56	4.36 \pm 0.29	2.75 \pm 1.36	2.72 \pm 0.25	3.72 \pm 1.03
实验组	10.22 \pm 1.64	16.54 \pm 3.30	20.08 \pm 2.79	24.73 \pm 5.77	13.93 \pm 1.63	14.31 \pm 4.96
阻断组	2.81 \pm 0.33	2.93 \pm 0.27	4.01 \pm 0.29	2.89 \pm 0.54	3.95 \pm 0.88	6.30 \pm 1.05
F 值	58.26	46.78	95.35	40.64	97.36	10.87
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.010

注: 各组小鼠数为 3 只; 正常组为 BALB/c 小鼠注射 $N\text{-}^{18}\text{F}$ -氟乙基-托法替尼, 实验组为胶原诱导关节炎(CIA)模型鼠注射 $N\text{-}^{18}\text{F}$ -氟乙基-托法替尼, 阻断组为 CIA 模型鼠注射托法替尼+ $N\text{-}^{18}\text{F}$ -氟乙基-托法替尼; %ID/g 为每克组织百分注射剂量率, T/M 为关节/肌肉

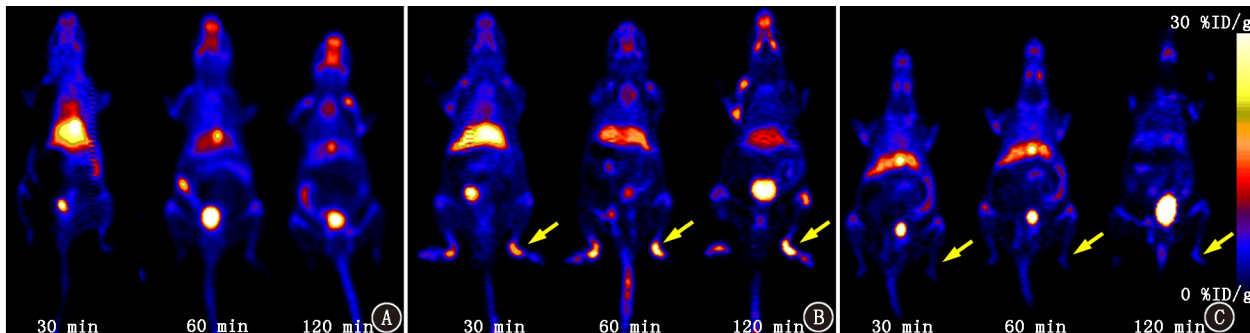


图3 注射 $N\text{-}^{18}\text{F}$ -氟乙基-托法替尼后不同时间的正常组(A)、实验组(B)和阻断组(C)小鼠 microPET 显像图。 $N\text{-}^{18}\text{F}$ -氟乙基-托法替尼在正常鼠关节处摄取明显低于 CIA 模型鼠炎性反应关节处摄取(箭头示)。正常组为 BALB/c 小鼠注射 $N\text{-}^{18}\text{F}$ -氟乙基-托法替尼, 实验组为 CIA 模型鼠注射 $N\text{-}^{18}\text{F}$ -氟乙基-托法替尼, 阻断组为 CIA 模型鼠托法替尼+ $N\text{-}^{18}\text{F}$ -氟乙基-托法替尼; %ID/g 为每克组织百分注射剂量率

制剂^[14],可与 JAK1/JAK3 特异性结合,分子结构中含有胺键,可对其进行化学修饰。目前,鲜有对托法替尼进行放射性标记的文献报道。本研究通过托法替尼结构中的胺键和¹⁸F-对甲苯磺酸氟乙酯进行缩合反应,制备得到 *N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼。在替尼类探针的开发过程中,通过“两步法”可快速、有效地对药物进行标记^[15-16],研究其药代动力学等特性。目前,*N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼的产率较低,在前期的工艺优化中发现,对 1,2-二甲苯氧基乙烷进行亲核氟化时,对 $K^{18}F/K_{222}$ 和 1,2-二甲苯氧基乙烷进行严格地干燥除水可提高氟化中间体的化学产率。

本研究对托法替尼进行化学修饰和¹⁸F 标记,合成 *N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼,并进行体内外稳定性研究和 PET 显像研究,结果示 *N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼在 PBS、血浆及小鼠体内的稳定性较好,2 h 内放化纯>95%,初步表明 *N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼在体内较为稳定,后续可用于 PET 显像。

DBA/1 鼠构建的 CIA 模型被认为是研究人 RA 的理想模型。在人 RA 和 CIA 模型鼠体内外,均观察到关节肿胀、关节破坏、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 和 IL-17 升高等。因此,该模型可被用于研究关节炎引起的生理生化变化以及抗关节炎药物的药效评价^[6,17]。本研究关节切片显示,正常鼠的距跟关节滑膜厚度正常,骨质无破坏且未见免疫细胞浸润;CIA 鼠的距跟关节滑膜增生,可见明显的骨质破坏和免疫细胞浸润。MicroPET 显像示,炎性反应关节部位高度摄取 *N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼,而正常组和阻断组关节部位摄取较少,且阻断组的关节摄取下降了 75%,初步表明 *N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼具有靶向性。*N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼注射后 30、60、120 min 的 PET 显像图示,实验组、正常组和阻断组的肝脏摄取均下降。托法替尼的 Log P 为 1.0,具有亲脂性^[18],并主要通过肝脏代谢^[19]; *N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼的 Log P 为 1.6,且 PET 显像结果与文献报道一致,初步表明对托法替尼的化学修饰和放射性标记并未改变托法替尼的亲脂性。本研究后续将进行细胞摄取实验和生物分布实验,进一步研究 *N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼的靶向性。

本研究通过“两步法”成功合成 JAK 类探针 *N*-¹⁸F-氟乙基-托法替尼,体外稳定,体内显像性能好,有望用于临床 RA 的诊断。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 周义翔:实施研究、论文撰写;严格:采集数据、论文撰写;潘栋辉、徐宇平、严俊杰、王辛宇:整理数据、统计分析、论文修

改;杨敏:研究指导、经费支持

参 考 文 献

- [1] Myasoedova E, Crowson CS, Kremers HM, et al. Is the incidence of rheumatoid arthritis rising? Results from Olmsted County, Minnesota, 1955–2007 [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(6): 1576-1582. DOI:10.1002/art.27425.
- [2] Aletaha D, Smolen JS. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: a review[J]. *JAMA*, 2018, 320(13): 1360-1372. DOI: 10.1001/jama.2018.13103.
- [3] Littlejohn EA, Monrad SU. Early diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis[J]. *Prim Care*, 2018, 45(2): 237-255. DOI:10.1016/j.pop.2018.02.010.
- [4] 苏云龙,王雪梅. ⁹⁹Tc^m-3PRGD2 对类风湿关节炎新生血管靶向受体显像的实验研究[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2020, 40(3): 166-169. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20190923-00208. Su YL, Wang XM. Experimental study of ⁹⁹Tc^m-3PRGD2 targeted receptor imaging on angiogenesis in rheumatoid arthritis[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2020, 40(3): 166-169. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20190923-00208.
- [5] 王亮亮,侯振宇,苏新辉,等. 靶向 TSPO 显像剂¹⁸F-VUHS1008 的制备及其对类风湿关节炎模型的显像[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2019, 39(7): 408-413. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.07.006. Wang LL, Hou ZY, Su XH, et al. Preparation and imaging of ¹⁸F-VUHS1008 targeting TSPO in rheumatoid arthritis model[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2019, 39(7): 408-413. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.07.006.
- [6] Giri P, Delvadia P, Gupta L, et al. Impact of collagen-induced arthritis on the pharmacokinetic disposition of voriconazole, a widely used antifungal agent: *in vitro* and *in vivo* investigations in DBA/1J mice[J]. *Xenobiotica*, 2019, 49(6): 698-707. DOI:10.1080/00498254.2018.1485989.
- [7] Brand DD, Latham KA, Rosloniec EF. Collagen-induced arthritis [J]. *Nat Protoc*, 2007, 2(5): 1269-1275. DOI:10.1038/nprot.2007.173.
- [8] Xin P, Xu X, Deng C, et al. The role of JAK/STAT signaling pathway and its inhibitors in diseases [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 80: 106210. DOI:10.1016/j.intimp.2020.106210.
- [9] Villarino AV, Kanno Y, O'Shea JJ. Mechanisms and consequences of Jak-STAT signaling in the immune system [J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(4): 374-384. DOI:10.1038/ni.3691.
- [10] Lippchen T, Vlaming ML, Custers E, et al. Automated synthesis of [¹⁸F] gefitinib on a modular system [J]. *Appl Radiat Isot*, 2012, 70(1): 205-209. DOI:10.1016/j.apradiso.2011.09.005.
- [11] Slobbe P, Windhorst AD, Stigter-van Walsum M, et al. Development of [¹⁸F] afatinib as new TKI-PET tracer for EGFR positive tumors [J]. *Nucl Med Biol*, 2014, 41(9): 749-757. DOI:10.1016/j.nucmedbio.2014.06.005.
- [12] Huang S, Han Y, Chen M, et al. Radiosynthesis and biological evaluation of ¹⁸F-labeled 4-anilinoquinazoline derivative (¹⁸F-FEA-Erlotinib) as a potential EGFR PET agent [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28(6): 1143-1148. DOI:10.1016/j.bmcl.2017.08.066.
- [13] Lu X, Wang C, Li X, et al. Synthesis and preliminary evaluation of ¹⁸F-icotinib for EGFR-targeted PET imaging of lung cancer [J]. *Bioorg Med Chem*, 2019, 27(3): 545-551. DOI:10.1016/j.bmc.2018.12.034.

- [14] Boyle DL, Soma K, Hodge J, et al. The JAK inhibitor tofacitinib suppresses synovial JAK1-STAT signalling in rheumatoid arthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(6): 1311-1316. DOI:10.1136/annrheumdis-2014-206028.
- [15] Perera S, Piwnica-Worms D, Alauddin MM. Synthesis of a [^{18}F]-labeled ceritinib analogue for positron emission tomography of anaplastic lymphoma kinase, a receptor tyrosine kinase, in lung cancer [J]. *J Labelled Comp Radiopharm*, 2016, 59(3): 103-108. DOI: 10.1002/jlcr.3373.
- [16] Radaram B, Pisaneschi F, Rao Y, et al. Novel derivatives of anaplastic lymphoma kinase inhibitors; synthesis, radiolabeling, and preliminary biological studies of fluoroethyl analogues of crizotinib, alectinib, and ceritinib [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 182: 111571. DOI:10.1016/j.ejmech.2019.111571.
- [17] Dağlı AF, Karataş A, Orhan C, et al. Antiinflammatory and antioxidant effects of gemcitabine in collagen-induced arthritis model [J]. *Turk J Med Sci*, 2017, 47(3): 1037-1044. DOI:10.3906/sag-1606-80.
- [18] Roskoski R Jr. Properties of FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors; a 2020 update[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 152: 104609. DOI:10.1016/j.phrs.2019.104609.
- [19] Dowty ME, Lin J, Ryder TF, et al. The pharmacokinetics, metabolism, and clearance mechanisms of tofacitinib, a janus kinase inhibitor, in humans[J]. *Drug Metab Dispos*, 2014, 42(4): 759-773. DOI:10.1124/dmd.113.054940.

(收稿日期:2021-07-28)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于论著文稿中中、英文摘要的书写要求

根据 GB 6447—86 的定义,文摘是以提供文献内容梗概为目的,不加评价和解释,简明确切地记述文献重要内容的短文。摘要应具有自明性和独立性,并拥有与一次文献同等量的主要信息。即不阅读全文就能获得必要的信息。它的详简程度取决于文献的内容,通常中文文摘以不超过 400 字为宜。应以第三人称的语气书写。不要使用“本人”、“作者”、“我们”等作为陈述的主语。

摘要的内容应包括四个要素,即目的、方法、结果、结论。(1)目的:指研究的前提和缘起,即为什么要作此项研究,可以有简单的背景材料。(2)方法:指研究所用的原理、对象、观察和实验的具体方法等。(3)结果:指研究的结果、效果、数据等,着重反映创新性的、切实可行的成果,包括本组研究中的重要数据。(4)结论:指对结果进行综合分析,逻辑推理得出的判断。有的可指出实用价值和推广价值;如有特殊例外的发现或难以解决的问题,可以提出留待今后深入探讨。英文摘要的内容与中文摘要的内容要求大体一致。

英文摘要要求做到语法正确,用词准确,与中文摘要对应,方法、结果可略详于中文摘要。必要时,作者在投稿前请英文书写水平高的人员帮助修改。英文文题后列出全部作者及其单位、科室(包括城市、邮编)的英文规范表达。

敬请广大读者、作者周知,并遵照此要求投稿。

医学论文中有关实验动物描述的要求

在医学论文的描述中,凡涉及到实验动物者,在描述中应符合以下要求:(1)品种、品系描述清楚;(2)强调来源;(3)遗传背景;(4)微生物学质量;(5)明确体质量;(6)明确等级;(7)明确饲养环境和实验环境;(8)明确性别;(9)有无质量合格证;(10)有对饲养方式的描述(如饲养类型、营养水平、照明方式、温度、湿度要求);(11)所有动物数量准确;(12)详细描述动物的健康状况;(13)对实验动物的处理方式有单独清楚的交代;(14)全部有对照,部分可采用双因素方差分析。

医学实验动物分为四级:一级为普通级;二级为清洁级;三级为无特定病原体(SPF)级;四级为无菌级(包括悉生动物)。卫生部课题及研究生毕业论文等科研实验必须应用二级以上的实验动物。

本刊编辑部