

文章编号:0253-9950(2001)04-0203-08

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记多巴胺 D_2 受体配体的合成, 标记及生物分布研究

贾 芳,刘正浩,孟昭兴,樊彩云,刘伯里

(北京师范大学 化学系,北京 100875)

摘要:首次合成了 3 种苯酰胺类 D_2 受体配体: N -[(2-巯基)乙基]-2,3-二甲氧基苯甲酰胺(MEDM-BZM), N -[(2-巯基)乙基]-5-溴-2,3-二甲氧基苯甲酰胺(MEBDM-BZM), N -[(2-巯基)乙基]-3-乙氧基苯甲酰胺(MEE-BZM), 光谱数据与结构相符。用配体交换法与 3-硫杂-1,5-戊二硫醇共同配位合成了中性脂溶性的“3+1”型混配 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 螯合物, 标记率大于 85%。3 种配合物在小鼠脑中的初始摄取率高于文献报道值。

关键词:多巴胺 D_2 受体; 配体交换; 苯甲酰胺; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 螯合物

中图分类号: O615.42 **文献标识码:** A

在大脑中枢神经系统中,多巴胺受体系统(Dopamine Receptor System)是大脑功能活动的最重要系统之一,多巴胺受体与神经系统障碍及相关疾病(如精神分裂症,帕金森氏综合症等)有着密切关系^[1,2]。近年来,许多 ^{11}C , ^{18}F , ^{123}I 标记的苯酰胺类 D_2 受体配体相继报道,如 IBZM^[3], FULL YPRIDE^[4]等。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 具有优良的核性质,并且方便易得,适于临床推广使用,因此将二者结合开发研究 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记的受体药物具有重要的现实意义。近几年来报道了一些 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记的多巴胺转运蛋白, 5-HT 受体显像剂等。BRANDAN^[5], H. SPIES^[6], H. F. KUNG^[7,8]等也纷纷对 D_2 受体的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记进行了研究,结果都不甚理想。这些 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记配合物虽具有一定的亲和力,但很难穿透血脑屏障(B. B. B.), 进脑量很低。实践证明, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记受体药物的设计关键在于必须保留配体与受体结合的活性部位,在其非活性部位引入 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 螯合基团。因此,本文在总结前人工作的基础上^[9], 提出在苯酰胺类 D_2 受体配体结构中,保留关键的苯环部分,采用整体组装方法(integrated method),用 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 螯合基团取代活性较弱的吡咯环部分,设计合成末端带有巯基的单齿配体,企望合成具有较高亲和力的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记的 D_2 受体显像剂,对 D_2 受体的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记研究工作再次进行新的尝试和探索。

收稿日期:2000-09-01; 修订日期:2001-08-09

基金项目:国家自然科学基金重点项目(29731020-1)

作者简介:贾 芳(1972-),女,天津人,博士研究生,放射药物专业

1 实验部分

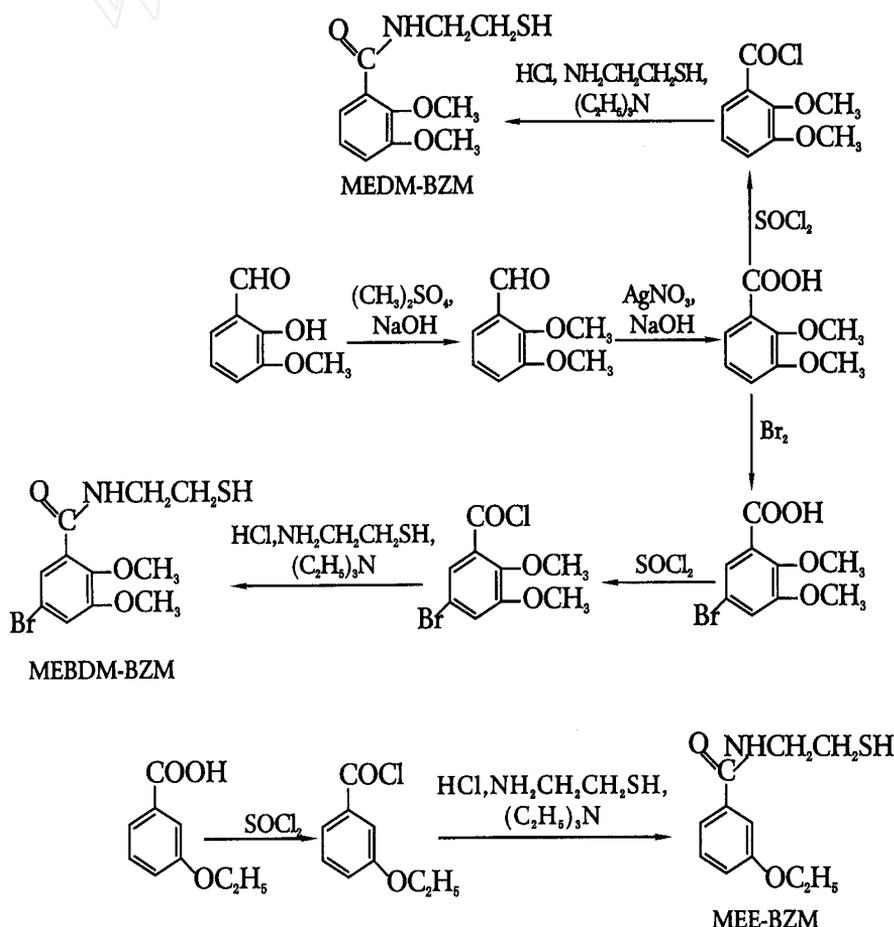
1.1 试剂和仪器

邻香草醛,化学纯,北京芳草医药研制服务公司产品;硫酸二甲酯,分析纯,北京昌平石鹰化工厂产品;硝酸银,分析纯,北京化工厂产品;半胱氨酸盐酸盐,分析纯,英国 SIGMA 公司产品;氯化亚砷,化学纯,北京昌平石鹰化工厂产品;三乙胺,分析纯,北京化工厂产品;3-乙氧基苯甲酸,自制;3-硫杂-1,5-戊二硫醇(SSS),分析纯,美国 ALDRICH 公司产品;葡庚糖酸钠 GH 药盒,北京师范大学师宏药物研制中心产品。

Necolet-170SX 付立叶红外仪;Avance500 MHz 核磁共振仪, BRUKER 公司产品;TRACE GC-MS 质谱仪, FINNIGAN 公司产品。

1.2 实验方法

配体合成路线如下:



1.2.1 2,3-二甲氧基苯甲醛的合成 按文献[10]的方法合成。产物为浅黄色晶体,熔点为 $47 \sim 50$,产率为 60 %。

1.2.2 2,3-二甲氧基苯甲酸的合成 按文献[11]的方法合成。产物为白色固体,熔点为124~127,产率为67%。

1.2.3 5-溴-2,3-二甲氧基苯甲酸的合成 按文献[12]的方法合成。得到白色针状晶体,熔点为80~81,产率为35.6%。

1.2.4 MEDM-BZM的合成 反应瓶中加入25 mL 甲苯,并在搅拌下加入0.4 g(2.4 mmol) 2,3-二甲氧基苯甲酸和4滴二甲基甲酰胺(DMF),完全溶解后加入0.7 mL(9.83 mmol)氯化亚砷,升温至65后反应1 h,体系冷却后,减压蒸除溶剂,得到黄色油状物。

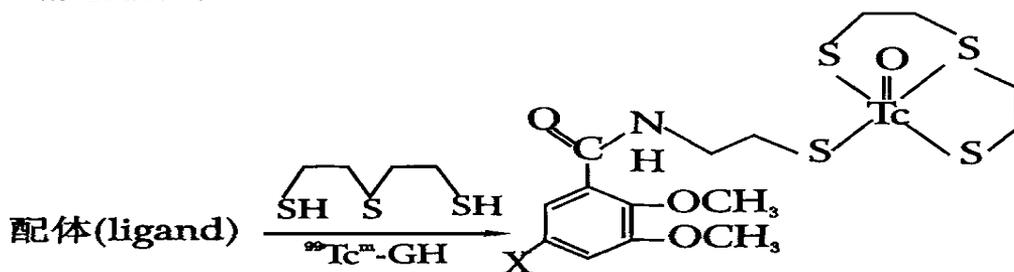
反应瓶中加入25 mL 二氯甲烷,0.2 g(2 mmol)半胱氨酸盐酸盐和0.72 mL(6 mmol)三乙胺,搅拌10 min后通入氮气。将上述酰氯溶于10 mL 二氯甲烷,冰浴下滴加入反应瓶中,保持冰浴反应24 h。反应停止后,用1 mol/L 盐酸洗涤反应混合液3次,每次35 mL,有机相用无水硫酸钠干燥。过滤掉干燥剂,减压蒸除溶剂得到黄色油状物。用V(CH₂Cl₂):V(CH₂OH)=10:1为展开剂,硅胶柱分离,R_f=0.25。经红外光谱IR(KBr)鉴定:ν_{CONH}=1 667 cm⁻¹;核磁共振谱¹H NMR(D₂O)鉴定(δ):2.94~2.98(m,2H),3.79~3.85(m,2H),3.89~4.09(m,6H),7.03~7.12(m,1H),7.15~7.26(s,1H),7.68~7.70(s,1H);质谱法MS测定(FAB⁺,m/z):242。

1.2.5 MEBDM-BZM的合成 以5-溴-2,3-二甲氧基苯甲酸为原料,反应过程同1.2.4节,产物为白色油状物。用V(乙酸乙酯):V(石油醚)=1:1为展开剂,硅胶柱分离,R_f=0.4。红外光谱IR(KBr)鉴定,ν_{CONH}=1 667 cm⁻¹;核磁共振谱¹H NMR(D₂O)鉴定(δ):2.75~2.82(m,2H),3.27~3.32(m,2H),3.61~3.82(m,6H),7.13~7.16(s,1H),7.81~7.82(s,1H);质谱法MS测定(FAB⁺,m/z):320。

1.2.6 MEE-BZM的合成 以3-乙氧基苯甲酸为原料,反应过程同1.2.4节,产物为白色油状物。用V(二氯甲烷):V(丙酮)=10:1为展开剂,硅胶柱分离,R_f=0.2。红外光谱IR(KBr)鉴定,ν_{CONH}=1 667 cm⁻¹;核磁共振谱¹H NMR(D₂O)鉴定结果(δ):1.42~1.44(m,3H),2.77~3.00(m,2H),3.62~3.80(m,2H),3.99~4.11(m,2H),7.01~7.05(s,1H),7.26~7.39(m,3H);质谱法MS测定(FAB⁺,m/z):226。

1.3 ⁹⁹Tc^m标记

1.3.1 标记方法 在葡庚糖酸钠 GH 药盒中加入⁹⁹Tc^m淋洗液约18.5 MBq,在30~40 水浴中加热反应10 min。在另一青霉素小瓶中加入100 μg 单齿配体和与其质量相等的三齿配体的乙醇溶液,调节pH=5.0~6.0,最后加入标记好的⁹⁹Tc^m-GH,在70 水浴中加热反应10 min,标记反应如下:



1.3.2 标记化合物的放射化学纯度测定 GH的鉴定采用生理盐水为展开剂,聚酰胺薄片为

支持体,在该体系下, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-GH}$ 的 $R_f = 0.8 \sim 1.0$; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4^-$ 的 $R_f = 0 \sim 0.1$; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 的 $R_f = 0 \sim 0.1$ 。

鉴定标记终产物采用两种展开体系:即分别以生理盐水和 $V(\text{氯仿}) : V(\text{丙酮}) = 10 : 1$ 为展开剂,聚酰胺薄片为支持体。鉴定结果显示,在生理盐水体系中,只出现 $R_f = 0.0 \sim 0.1$ 的单峰,这表明配体交换反应进行完全。在有机展开剂体系中,标记终产物的 $R_f = 0.7 \sim 1.0$,杂质峰的 $R_f = 0.0 \sim 0.1$,最佳标记条件下得到的放化纯大于 85%。

1.4 配合物脂水分配系数的测定

分别取 0.1 mL 制备的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{L})$ (SSS) 溶液加入到等体积的、pH 分别 7.0, 7.4 的 0.1 mol/L 正辛醇-磷酸缓冲溶液中,充分震荡后离心分层,从水相和有机相中各移取等体积样品测量计数,由有机相与水相放射性计数比的对数计算得到标记化合物的脂水分配系数。重复上述过程直至 $\lg P$ 达到恒定值。

1.5 小鼠体内生物分布实验

取体重约 18 ~ 20 g 的昆明种小白鼠 12 只,尾静脉注射 0.1 mL (约 0.74 MBq) 标记物溶液,分别在注射后 2, 15, 30, 60 min 将小鼠断头处死。取其脏器进行称重和放射性测量,计算每克组织的摄取率 ($\text{ID} / (\% \cdot \text{g}^{-1})$)。

2 结果和讨论

2.1 影响标记的主要因素

2.1.1 pH 值对标记率的影响 pH 值对 3 种不同配体标记率的影响结果列入表 1。由表 1 可见,当标记体系的 pH = 5 ~ 6 时,均达到最佳标记率。

表 1 pH 对配体标记率的影响

Table 1 Influence of pH value on the labeling yield

配体 (ligands)	pH										%
	3.5	3.8	4.1	4.6	5.1	6.0	6.4	7.1	7.5	8.0	
MEDM-BZM		59.6		81.5	96.1		91.6		88.4		85.6
MEE-BZM		61.9		87.1	90.1		68.2		69.6		61.5
MEBDM-BZM	58.2		62.4		91.9	85.8		82.2		79.4	

2.1.2 反应温度对标记率的影响 标记反应进行 10 min 时,反应温度对标记率的影响结果列入表 2。由表 2 可见,提高反应温度有利于在短时间内使标记率达到最高值,当水浴温度为 70 左右时,3 种配体均在 10 min 内即可达到最佳标记率。

表 2 反应温度对标记率的影响

Table 2 Influence of reaction temperature on the labeling yield

配体 (ligands)	t/							%
	20	30	40	50	60	70	80	
MEDM-BZM	80.9	81.3	88.4	89.9	90.9	94.1	90.6	
MEBDM-BZM	68.7	75.4	78.2	83.1	84.2	89.7	84.6	
MEE-BZM	79.4	80.0	81.9	83.1	87.3	90.1	82.0	

2.1.3 单齿配体量对标记率的影响 表 3 为不同单齿配体量对标记率的影响。从表 3 看

出,配体量超过 75 μg 后,标记率并没有显著提高。考虑到受体显像剂需要高比度,因此采用单齿配体量为 75 ~ 100 μg。

表3 配体用量对标记率的影响

Table 3 Influence of ligand quantity on labeling yield %

配体 (ligands)	m/μg						%
	25	50	75	100	150	200	
MEDM-BZM	88.0	88.3	92.1	88.9	88.3	87.1	88.9
MEBDM-BZM	88.0	87.3	90.6	90.6	89.7	90.8	89.0
MEE-BZM	68.9	71.1	77.7	82.6	81.7	83.7	-

2.1.4 反应时间对标记率的影响 表4给出了不同反应时间标记率的变化情况。从表4可以发现,反应 10 min 后标记率达到最高并再无显著变化,因此确定反应时间为 10 min。

表4 反应时间对标记率的影响

Table 4 Influence of reaction time on labeling yield %

配体 (ligands)	t/min					%
	5	10	15	20	30	
MEDM-BZM	82.1	87.2	86.5	86.4	85.5	
MEBDM-BZM	89.9	91.1	90.6	91.6	91.5	
MEE-BZM	77.9	83.4	82.4	83.2	82.6	

实验中发现,标记反应完成待冷却后,体系出现微混浊,加入 0.1 mL 2%吐温 80-乙醇溶液后,体系澄清透明,标记率无变化。从而为下一步的体内生物分布数据测定提供了符合要求的注射液。

2.2 配合物脂水分配系数的测定

3种配合物的脂水分配系数的测定结果列入表5。实验结果表明,3种配合物均为脂溶性配合物,在不同pH值下,同种配合物的lgP值变化不大。

表5 配合物的脂水分配系数

Table 5 The lg P value of complexes

配合物(complexes)	pH = 7.0	pH = 7.4
⁹⁹ Tc ^m (MEDM-BZM) (SSS)	1.19	1.19
⁹⁹ Tc ^m (MEBDM-BZM) (SSS)	1.15	1.30
⁹⁹ Tc ^m (MEE-BZM) (SSS)	1.17	1.29

2.3 配合物在小鼠体内的生物分布

配合物⁹⁹Tc^m(L) (SSS)在小鼠体内的生物分布列入表6~8。从表中数据可以看出,3种

配合物 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ (MEBDM-BZM) (SSS), $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ (MEDM-BZM) (SSS) 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ (MEBDM-BZM) (SSS) 在注射后 2 min, 在脑中的初始摄取率分别为 0.79 %/g, 1.08 %/g, 1.17 %/g; 在血中的初始摄取均较低且清除迅速。药物在体内主要是肝代谢。

表 6 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ (MEBDM-BZM) (SSS) 在小鼠体内的生物分布Table 6 Biodistribution of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ (MEBDM-BZM) (SSS) in mice

%/g

脏器 (tissues)	2 min	15 min	30 min	60 min
血 (blood)	16.64 ±1.15	4.92 ±0.25	2.87 ±0.34	2.46 ±0.38
心 (heart)	6.30 ±0.39	2.95 ±0.01	1.90 ±0.06	1.83 ±0.35
肺 (lung)	31.26 ±3.34	21.76 ±0.08	20.31 ±0.72	16.00 ±2.59
肾 (kidney)	10.04 ±0.89	6.29 ±0.32	5.54 ±0.01	5.51 ±0.5
肝 (liver)	34.91 ±0.71	37.16 ±1.49	35.13 ±2.44	31.71 ±3.06
脑 (brain)	0.79 ±0.16	0.39 ±0.03	0.26 ±0.01	0.25 ±0.04

注 (note) : $n = 3$ 表 7 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ (MEDM-BZM) (SSS) 在小鼠体内的生物分布Table 7 Biodistribution of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ (MEDM-BZM) (SSS) in mice

%/g

脏器 (tissues)	2 min	15 min	30 min	60 min
血 (blood)	9.82 ±0.80	3.93 ±0.26	3.75 ±0.79	2.40 ±0.26
心 (heart)	8.55 ±1.18	5.45 ±1.06	6.16 ±2.09	4.27 ±0.27
肺 (lung)	12.21 ±0.91	11.23 ±2.43	9.25 ±1.28	7.17 ±0.36
肾 (kidney)	9.05 ±3.62	6.79 ±0.16	5.67 ±0.52	4.44 ±0.37
肝 (liver)	19.91 ±3.98	22.14 ±2.38	19.80 ±0.93	13.94 ±2.44
脑 (brain)	1.08 ±0.12	0.81 ±0.10	0.78 ±0.06	0.67 ±0.05

注 (note) : $n = 3$ 表 8 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ (MEE-BZM) (SSS) 在小鼠体内的生物分布Table 8 Biodistribution of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ (MEE-BZM) (SSS) in mice

%/g

脏器 (tissues)	2 min	15 min	30 min	60 min
血 (blood)	11.16 ±0.34	7.33 ±1.89	5.72 ±0.17	5.51 ±0.38
心 (heart)	4.84 ±0.43	3.36 ±0.54	3.03 ±0.20	2.98 ±0.08
肺 (lung)	18.54 ±1.80	13.47 ±0.92	11.12 ±1.01	14.44 ±1.68
肾 (kidney)	6.33 ±0.36	4.65 ±0.51	4.12 ±0.33	5.28 ±1.64
肝 (liver)	13.72 ±0.46	13.03 ±1.14	13.14 ±0.05	14.82 ±5.74
脑 (brain)	1.17 ±0.01	0.77 ±0.06	1.02 ±0.25	0.49 ±0.12

注 (note) : $n = 3$

3 结 论

设计合成了3种新的苯酰胺类D₂受体标记前体,并对其进行了结构鉴定。采用配体交换法与3-硫杂-1,5-戊二硫醇共同配位合成了“3+1”型混配⁹⁹Tc^m螯合物,得到了澄清且放射化学纯度大于85%的标记溶液。对3种配合物的初步生物分布实验研究表明,各配合物在小鼠脑中有一定的初始摄取量。但还需进一步实验以研究其对受体的结合力。

参考文献:

- [1] KUNG H F. Radiopharmaceuticals for CNS Receptor Imaging With SPECT[J]. Nucl Med Biol, 1990, 17(1):85.
- [2] CHUMPRADIT S, KUNG M P, KUNG H F. Fluorinated and Iodinated Dopamine Agents (FIDA): D₂ Imaging Agents for PET and SPECT. 9th international Symposium on Radiopharmaceutical Chemistry. 6-10th April (1992), Abstracts:23.
- [3] KUNG H F, BILLINGSS J J, GUO Y Z, et al. Preparation and biodistribution of [¹²⁵I]IBZM: A Potential CNS D₂ Dopamine Receptor Imaging Agent[J]. Nucl Med Biol - Int J Rad Appl Inst Part B, 1988, 15:195.
- [4] MUKHERJEE J, YANG Z Y, DAS M K, et al. Fluorinated Benzamide Neuroleptics. Development of (S)-N-[(1-allyl-2-pyrrolidinyl) methyl]-5-(3-[¹⁸F]fluoropropyl)-2,3-dimethoxy-benzamide as an Improved Dopamine D₂ Receptor Tracer[J]. Nucl Med Biol, 1995, 22:283.
- [5] SAMNICK S, BRANDAU W, SCIUK J. Synthesis, Characterization and Biodistribution of Neutral and Lipid-Soluble ⁹⁹Tc^m-Bisaminoethanethiol Spiperone Derivatives: Possible Ligands for Receptor Imaging With Spect[J]. Nucl Med Biol, 1995, 22(5):573.
- [6] SPIES H, NOLL B, NOLL S T, et al. Derivatives of 6-Methyl-8- α -amino-ergoline: Synthesis and Affinity to the Dopamine D₂ Receptor[J]. Q J Nucl Med, 1998, 42, Suppl. 1~3:22.
- [7] CHURNPRADIT S, KUNG M P, PLOSSL K. Design and Synthesis of ⁹⁹Tc^m-Labeled Benzamides as Potential Dopamine D₂/D₃ Receptor Imaging Agents[J]. Q J Nucl Med, 1998, 42, Suppl. 1~3:30.
- [8] CHUMPRADIT S, KUNG M P, PLOSSL K. Design and Synthesis of ⁹⁹Tc^m-Labeled Dopamine D₂/D₃ Receptor Imaging Agents[J]. J Labelled Cpd Radiopharm, 1999, 42, Suppl 1:354.
- [9] 孟昭兴,刘伯里. 中枢神经系统受体显像剂研究. 苯酰胺类D₂受体显像剂结构效应研究[J]. 同位素, 1997, 10(2):71.
- [10] VOGEL's, Textbook of Practical organic chemistry (4th), 1978, 4:124.
- [11] GEORGE R P, DAVID M P. Hydrogen Bromide-Acetic Acid Demethylation of 2,3-Dimethoxy-6-bromobenzoic Acid. An Example of Concomitant Bromine Migration[J]. J Org Chem, 1960, 25:721.
- [12] GILBERT S, HAROLD C. The Synthesis of Some 1-Substituted-7,8-dimethoxy-2-tetralones[J]. J Am Chem Soc, 1951, 73(5):4743.

SYNTHESIS, LABELLING AND BIODISTRIBUTION STUDY OF NEW $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -LABELLED BENZAMIDE DOPAMINE D_2 RECEPTOR IMAGING AGENTS

JIA Fang, LIU Zheng-hao, MENG Zhao-xing, FAN Cai-yun, LIU Bo-li

(Department of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract : In developing $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -labeled dopamine D_2 receptor imaging agents, three new substituted benzamide compounds are designed and synthesized. By tethering a S_3 chelate system onto them, three technetium 3 + 1 complexes are formed. Initial synthesis and radiolabeling suggest that the $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ complexes are neutral and lipophilic. Labeling yield is over 85 %. The brain uptake of three $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ complexes is higher than the data reported in literature.

Key words : dopamine D_2 receptor; ligand exchange; benzamide; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ complex

欢迎订阅 《分析科学学报》 欢迎投稿 2002 年征订启事

《分析科学学报》是经国家科技部(原国家科委)批准,国家教育部主管的分析科学领域的综合性学术刊物,由武汉大学、北京大学、南京大学三校共同主办,刊号 $\text{ISSN } 1006 - 6144$
 $\text{CN42} - 1338/\text{O}$ 。

《分析科学学报》主要报道我国分析科学领域中,在理论、方法、仪器和技术等方面具有创新性和先进性的研究成果,介绍分析科学前沿领域的最新进展和动向。栏目设置有:研究报告、研究简报、仪器研制与实验技术、综述与评论、技术交流、动态与信息之窗;读者对象为:大专院校、科研院所、环保、化工、冶金、医药、商检以及工矿企事业单位中从事分析科学的科研、教学、生产和管理人员。

《分析科学学报》为中文核心期刊,教育部优秀科技期刊,其刊载的论文已被国内外众多数据库和文摘期刊全文收录和摘录。

《分析科学学报》现为双月刊,国际标准版(大 16 开),88 页/期,定价 6.00 元,全年 36.00 元。全国邮局发行(代号:38-202),也可向编辑部订阅。补购过刊,请直接与编辑部联系。

编辑部地址:湖北武昌武汉大学化学系 邮政编码:430072 电话:(027) 87682248