

文章编号: 0253-9950(2001)04-0211-06

6-[¹⁸F] 氟- L-多巴的合成

唐刚华^{1,2}, 张 岚¹, 唐小兰², 汪勇先¹, 尹端止¹

(1. 中国科学院 上海原子核研究所 放药中心, 上海 201800;
2. 第一军医大学 南方医院 PET 中心, 广东 广州 510515)

摘要:以硝基藜芦醛为原料, 采用亲核取代合成法, 利用手性相转移催化烷基化等多步反应制备了 6-[¹⁸F] 氟- L-多巴 (¹⁸FDOPA), 并用手性流动相和反相 C18 柱的 HPLC 法测定对映纯度。结果表明, ¹⁸FDOPA 总的合成时间少于 120 min, 经衰减校正后总放化产额约为 6.3%, 对映纯度和放化纯度分别大于 95% 和 99%。

关键词: 6-[¹⁸F] 氟- L-多巴; 亲核取代; 手性相转移催化烷基化; 对映纯度; 手性流动相 HPLC 法

中图分类号: TL921.1; O615.3 **文献标识码:** A

L-6-[¹⁸F] 氟-3,4-二羟苯丙氨酸 (6-[¹⁸F] 氟- L-多巴, 6-[¹⁸F] fluorol- L-dopa, ¹⁸FDOPA) 为 L-多巴的类似物, 是研究大脑突触前多巴胺能神经功能的正电子显像剂, 已广泛用于早期帕金森氏病的诊断^[1], 近年来也用于肿瘤的鉴别诊断研究^[2]。¹⁸FDOPA 的制备国外已有报道。其合成方法主要有两种, 即亲电取代反应法和亲核取代反应法^[3]。亲电取代反应法的合成步骤简便, 放化产额较高, 是目前制备 ¹⁸FDOPA 较为常用的方法。但该方法不仅要使用氚靶 (或 ¹⁸O₂ 靶) 和危险的分子氟作载体, 而且所制备的 ¹⁸FDOPA 比活度较低, 在国内很难推广应用。亲核取代反应法需要多步反应, 合成较复杂, 但此法^[4]使用 H₂¹⁸O 靶水制备 ¹⁸F⁻, 可获得高比活度、无载体的 ¹⁸FDOPA。该法与手性相转移催化烷基化反应相结合可以获得高放化产额和高对映纯度的产物^[5]。现该法处于实验研究阶段, 国内尚无生产 ¹⁸FDOPA 的报道。为此, 研究简便实用的亲核取代反应法具有非常重要的经济价值和临床价值。本文以硝基藜芦醛为原料, 经亲核氟化、还原碘化、手性相转移催化烷基化及水解等多步反应合成 ¹⁸FDOPA, 并建立简便实用的手性流动相 HPLC 法测定其对映纯度。

收稿日期: 2001-02-21; 修订日期: 2001-05-11

基金项目: 国家“九五”重点科研项目(攻关)计划(96-B12-04-02-2); 中国博士后科学基金项目; 广东省自然科学基金资助项目(C030317)

作者简介: 唐刚华(1968-), 男, 湖南东安人, 讲师, 博士后, 主要从事药物合成、代谢与药理、PET 药物及其 PET 临床应用研究

1 实验部分

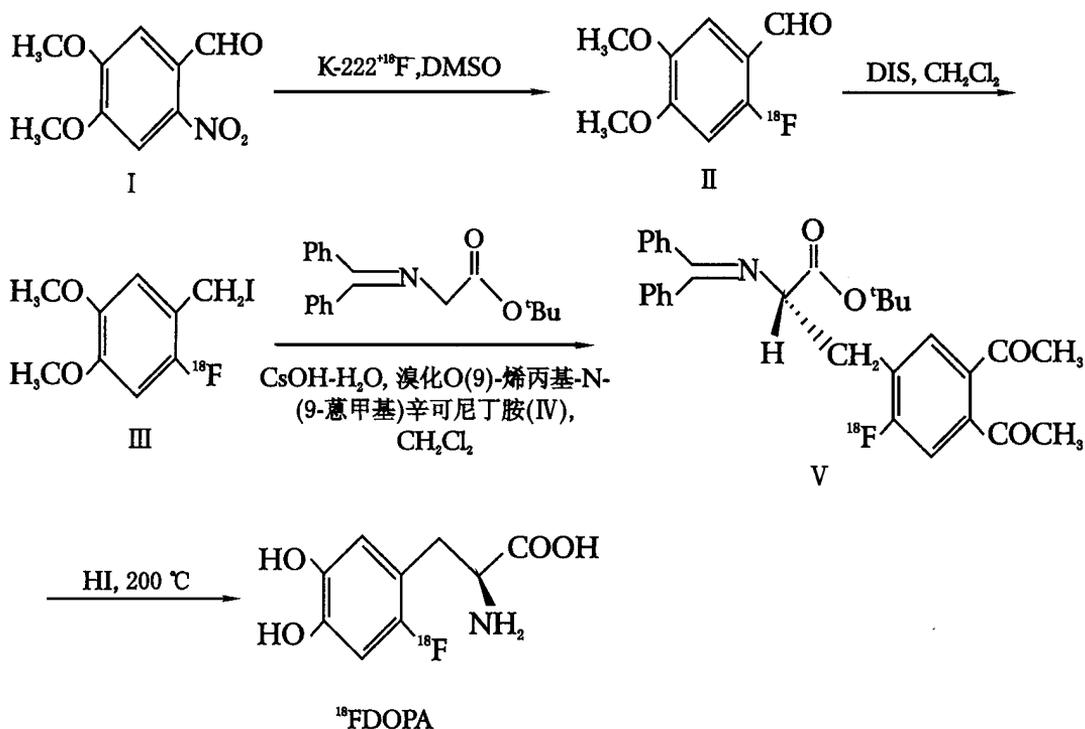
1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 PET trace 回旋加速器,美国 GE 公司产品;LC-10AT 型 HPLC 分析系统,日本 SHIMADZU 公司产品;LB 508 型放射性流量探测器,德国 EG & G 公司产品;WMZK-01 型恒温控制仪,上海医用仪表厂产品;JB-3 型恒温搅拌器,上海雷磁仪器厂新泾分厂产品;b 型熔点测定玻璃管,温度未校正;DPX 300 型核磁共振仪,美国 BRUKER 公司产品,溶剂为 CDCl_3 ;API2000 型液相色谱质谱联用仪,美国 PE 公司产品。

1.1.2 试剂 硝基藜芦醛,苯硅烷,9-氯甲基萘,辛可尼丁,烯丙基溴, $\text{CsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 及 57% HI 均为 ACROS ORGANICS 公司产品;N-(二苯基甲叉)甘氨酸叔丁酯,日本东京化成工业株式会社产品;催化剂氨基聚醚 Kryptofix 222 (K-222),MERCCK 公司产品;标准品 6-氟-L-多巴,SIGMA 公司产品;QMA Sep-Pak 和 C18 Sep-Pak, WATERS 公司产品;丰度为 97% 的 H_2^{18}O ,美国 ISOTECH 公司产品。其它试剂均为国产分析纯。

1.2 ^{18}F FDOPA 的合成

合成路线如下:



1.2.1 $[^{18}\text{F}]$ 氟代藜芦醛()的制备 按文献[6]的方法,以 1.5 mL H_2^{18}O 作靶(使用时稀释至丰度为 20%),用 16.5 MeV, 25 μA 的质子束流连续轰击靶 60 min 产生 $^{18}\text{F}^-$ 。将含 $^{18}\text{F}^-$ 的靶水通过 QMA 柱后,用 1 mL 含 2.5 mg (0.018 mmol) 碳酸钾和 13 mg (0.034 mmol) K-222 的乙腈水溶液淋洗,取放射性活度为 3.7 GBq 的淋洗液,120 $^\circ\text{C}$ 下加热,氮气吹干。加乙腈 0.5 mL,120 $^\circ\text{C}$ 下加热,氮气吹干,重复 2 次,得白色固体 $[\text{K}^+/\text{K-222}]^+ ^{18}\text{F}^-$ 。在 $[\text{K}^+/\text{K-222}]^+ ^{18}\text{F}^-$

中,加1 mL含硝基藜芦醛()17 mg(0.081 mmol)的二甲基亚砜(DMSO),密封,在135 °C下加热20 min。待反应混合物冷却至室温后,加水2.5 mL,然后通过2个C18 Sep-Pak小柱,分别用2.5 mL 0.1 mol/L盐酸,1 mL 0.1 mol/L碳酸钠溶液和2.5 mL水洗涤,弃去洗涤液。最后用3.5 mL乙醚解吸并收集到反应瓶中,用氮气吹干,得黄色固体[¹⁸F]氟代藜芦醛()。经衰减校正,放化产额约25%。HPLC分析:C18柱,流动相为甲醇-水(体积比为65:35,pH=4,含乙酸0.05 mol/L),流速为0.7 mL/min,保留时间 $t_R=9$ min;TLC分析:层析液为100%二氯甲烷, $R_f=0.3$; [¹⁹F]氟代藜芦醛CFMS(m/z)分析:184。

1.2.2 二碘硅烷(DIS)的制备 按文献[4]的方法,将100 mg碘(0.393 mmol)加入到干燥的圆底烧瓶中,然后加入苯硅烷0.055 mL(0.446 mmol)和乙酸乙酯3 μ L(0.031 μ mol),室温下密封搅拌2 min,得二碘硅烷(DIS)。

1.2.3 2-[¹⁸F]氟-4,5-二甲氧苄基碘()的制备 将[¹⁸F]氟代藜芦醛溶于5 mL二氯甲烷后,转移至盛放有刚制备的DIS的烧瓶中。室温密封搅拌反应2 min后,加入0.250 mL 10% Na₂S₂O₃和0.250 mL 10% KHCO₃,中止反应。再加2.5 mL水,分离,弃水相。浓缩有机相至1 mL,过硅胶柱,用15 mL二氯甲烷淋洗,收集淋洗液,得棕黄色2-[¹⁸F]氟-4,5-二甲氧苄基碘()溶液。浓缩至2 mL,经衰减校正,放化产额约75%。TLC分析:层析液为100%二氯甲烷, $R_f=0.56$ 。

1.2.4 催化剂溴化O(9)-烯丙基-N-(9-苄基)辛可尼丁铵()的制备 按Corey法制备^[7]。将1.3 g(4.422 mmol)辛可尼丁和1.0 g(4.415 mmol)9-苄基苄溶于14 mL甲苯中,通氮气,130 °C下回流2 h,冷却过滤,得黄色固体。用甲苯洗涤,经氯仿-乙醚重结晶,得浅黄色固体氯化N-(9-苄基)辛可尼丁铵1.92 g($Y=79\%$),熔点为164~166 °C。取1.8 g(3.458 mmol)氯化N-(9-苄基)辛可尼丁铵溶于40 mL二氯甲烷,通氮气,在搅拌下加入1.6 mL烯丙基溴和1.2 mL 50% NaOH溶液,室温反应2 h后,用25 mL水稀释,分离,水相用20 mL二氯甲烷提取两次,合并有机相,用无水硫酸钠干燥,过滤,去除溶剂,固体用氯仿-乙醚重结晶,得到浅黄色固体化合物()0.87 g($Y=42\%$)。熔点为169~172 °C。¹H-NMR分析(CD₃OD, δ):8.88(d,1H),8.74(d,1H),8.67(d,1H),8.42(s,1H),8.30(d,1H),8.07(m,3H),7.78(m,3H),7.61(m,2H),7.49(m,2H),6.80(s,1H),6.24(m,2H),5.75(d,1H),5.53(m,2H),5.40(d,1H),4.85(m,2H),4.36(m,4H),3.62(d,1H),3.15(m,1H),2.75(m,1H),2.29(m,2H),2.02(m,1H),1.82(s,1H),1.48(m,2H);MS(m/z)分析:525。

1.2.5 2-(2-[¹⁸F]氟-4,5-二甲氧苄基)-N-(二苄基甲叉)甘氨酸叔丁酯()的制备 将含化合物()的二氯甲烷溶液转移至圆底烧瓶中,加入23 mg(0.038 mmol)催化剂(),7.5 mg(0.026 mmol)N-(二苄基甲叉)甘氨酸叔丁酯和60 mg(0.339 mmol)CsOH·H₂O,混合均匀,室温密封反应10 min,抽滤,减压蒸馏至干,得化合物()。

1.2.6 6-[¹⁸F]氟-L-多巴(¹⁸FDOPA)的制备 将新蒸馏或市售的0.5 mL 57% HI加入到上述烧瓶中,另加25 μ L次磷酸(H₃PO₂)和50 mg红磷,接回流冷凝管,密封,200 °C下回流25 min。冷却,用6 mol/L NaOH溶液中和,过0.22 μ m滤膜后,注入半制备型HPLC系统进行分离,收集10.2 min组分,放射性活度为111 MBq,经衰减校正后总放化产额约为6.3%。HPLC分离:C18分离柱,流动相为5 mmol/L乙酸钠,1 mmol/L EDTA,0.1%乙酸及0.01%抗坏血酸的混合溶液,pH=4,流速为4.5 mL/min, $t_R=10.2$ min。HPLC分析:C18分离柱,流动相为0.07 mol/L KH₂PO₄溶液,流速为1 mL/min, $t_R=6.1$ min;TLC分析:层析液为

100 % 二氯甲烷, $R_f = 0.58$; 分析结果与同法制备的标准 6-[^{19}F]氟-L-多巴一致。6-[^{19}F]氟-L-多巴 CFMS 分析 (m/z): 214; ^1H NMR (CDCl₃) 分析: 3.1 ~ 3.3 (m, 2H, CH₂), 4.1 ~ 4.3 (m, 1H, CH), 6.65 (d, 1H, H-5), 6.74 (d, 1H, H-2)^[8], ^{19}F NMR (DCI₃) 分析: -126.2 (decoupled)^[8]。

1.2.7 ^{18}F FDOPA 注射液的配制 收集从制备型 HPLC 柱淋洗下来的 10.2 min 组分约 4 mL, 加入适量 NaCl, 配制成浓度为 0.9 % 的 NaCl 等渗溶液, 直接通过 0.22 μm 无菌滤膜后, 收集于无菌小瓶中, 可用于动物和人体实验。

1.3 ^{18}F FDOPA 对映纯度的测定

参照文献[9], 使用手性流动相和反相 C18 柱的放射性 HPLC 系统测定 ^{18}F FDOPA 注射液的对映纯度。HPLC 分析: 反相 C18 柱, 柱温为室温, 流动相为 8 mmol/L 乙酸铜和 17 mmol/L L-脯氨酸的混合溶液 (pH=5), 流速为 1 mL/min, 泵压为 4.2 MPa, L 型 ^{18}F FDOPA 的 $t_R = 9.8$ min。D, L 型 ^{18}F FDOPA 的保留时间分别与标准品 D, L 型 6-[^{18}F]氟-L-多巴一致 (D 型: $t_R = 7.2$ min; L 型: $t_R = 9.8$ min)。经测定 ^{18}F FDOPA 对映纯度大于 95 %。

2 结果和讨论

2.1 放射性核素 $^{18}\text{F}^-$ 的生产

使用丰度为 20 % 的 H_2^{18}O 作靶, 除发生 $^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$ 核反应外, 还会发生 $^{16}\text{O}(\text{p}, \text{)}^{13}\text{N}$ 核反应, 产生半衰期只有 10 min 的 ^{13}N , 但经衰变和 QMA Sep-Pak 柱处理后, 即可除去 ^{13}N 杂质。复合物 $[\text{K}^+/\text{K}^{222}]^+ ^{18}\text{F}^-$ 的制备必须除去水分, 并用无水乙腈多次处理除去微量水分, 使复合物保持干燥, 这样才能生产出高活度 $^{18}\text{F}^-$ 。

2.2 亲核氟化标记反应

^{18}F FDOPA 是采用文献[4]的方法合成的。但此方法需要合成前体芳烃三甲基铵盐, 原料昂贵, 合成步骤复杂, 且只能贮藏几个月。本文以价格较便宜的硝基藜芦醛为前体, 以相同的反应时间得到相等放化产额 (20 % ~ 50 %) 的 [^{18}F]氟代藜芦醛 ()。且硝基藜芦醛很稳定, 能贮存数年。但市售的硝基藜芦醛纯度不高, 使用时必须预先纯化。该步反应的放化产额不稳定, 主要与前体纯度、反应温度、反应时间及 $^{18}\text{F}^-$ 活度有关, 这也是其总放化产额 (约 6 %, 以 $^{18}\text{F}^-$ 活度为起始值计算) 明显低于文献[5]报道值 (约 25 %) 的主要原因之一。

2.3 还原碘化反应

亲电烷基化试剂 2-[^{18}F]氟-4,5-二甲氧基苄基碘 () 的制备可采用多种方法还原碘化 [^{18}F]氟代藜芦醛 ()。DIS 是一种还原碘化醛类较好试剂, 能够简便高效地还原碘化 [^{18}F]氟代藜芦醛 (), 该步校正后的放化产额可达 75 %。但使用市售 DIS, 还原碘化反应产率不稳定, 若即时由碘和苯硅烷制备 DIS, 无需纯化就可获得放化产额较稳定 (60 % ~ 75 %) 的标记物。

2.4 手性相转移催化烷基化反应

2-[^{18}F]氟-4,5-二甲氧基苄基碘 () 发生烷基化反应需要制备立体专一性的相转移催化剂 (), 纯净的催化剂 () 较稳定, 可以存放 1 ~ 2 年性能不发生变化。采用手性相转移催化烷基化可使反应在室温进行, 分离简便, 只需过滤, 溶剂无需蒸发, 从而大大缩短合成时间。此步反应所使用的固体 $\text{CsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 是一种强碱, 可减少有机相二氯甲烷层中的水分, 并可使反

应在较低温度下进行。该步校正后的放化产额可达 80 %。

2.5 水解反应

最后一步合成反应需要除去保护基。有效的方法是采用高浓度的 HI(57 %)在高温(大于 200 °C)下水解。尽管条件苛刻,但可获得较高对映纯度(大于 95 %)和较高放化产额(70 %)的¹⁸FDOPA。这一步放化产额低于文献[4]报道值,主要原因可能与所采用的反应容器和反应温度控制有关。

2.6 HPLC 纯化

水解后的酸溶液冷却至室温,用 6 mol/L NaOH 溶液中和后,注入半制备 HPLC 系统进行分离。流动相主要有体积比为 5:95 的乙腈与 0.01 mol/L 磷酸混合溶液(流速为 3.5 mL/min, $t_R = 7.4$ min)及 400 mL 5 mmol/L 乙酸钠,1 mmol/L EDTA,0.1 %乙酸和 0.01 %抗坏血酸混合液(pH = 4,流速为 4.5 mL/min, $t_R = 10.2$ min),两种流动相均可有效地分离¹⁸FDOPA,且可获得相等的分离效率,校正放化产额均为 60 %。但前一流动相含有毒的乙腈,不能直接用于动物和人体试验。后一流动相含有 EDTA 和抗坏血酸,可以防止¹⁸FDOPA 进一步氧化。该步放化产额低于文献[4]值,主要原因是分离柱较短,尚未达到最佳分离效果。该步也是影响¹⁸FDOPA 总放化产额明显低于文献[5]报道值(约 25 %)的主要原因之一。

2.7 注射液的配制

为保证溶液的等渗性,需加一定量的氯化钠,保证注射液中氯化钠量为 0.9 %。为保证¹⁸FDOPA 注射液稳定,防止¹⁸FDOPA 进一步氧化,注射液中必须含有药理学安全范围内的 EDTA 和抗坏血酸。为保证注射液无菌,必须经 0.22 μm 的无菌滤膜过滤。

2.8 ¹⁸FDOPA 对映纯度的测定

手性 HPLC 法和手性流动相 HPLC 法均可用来分离 D, L 型氨基酸^[8,9]。手性流动相 HPLC 法的机理可能为:手性流动相为乙酸铜和 L-脯氨酸的混合稀溶液,铜离子和 L-脯氨酸可形成铜-脯氨酸复合物,吸附在色层柱支持物表面,该复合物可与被拆分的 D, L 型氨基酸发生配体交换形成对映复合物,从而达到分离^[9]。现有文献报道¹⁸FDOPA 对映纯度的测定均是采用手性 HPLC 法,但手性柱价格昂贵。本文采用手性流动相和反相 C18 柱的 HPLC 法测定终产物¹⁸FDOPA 的对映纯度,所需费用低廉,测定结果和手性 HPLC 法基本一致,¹⁸FDOPA 对映纯度大于 95 %,保留时间 $t_R = 9.8$ min,与标准品 6-[¹⁹F]氟-L-多巴一致。

2.9 ¹⁸FDOPA 质量控制

¹⁸FDOPA 为无色或浅黄色溶液,pH 值约为 7.0;用衰变法测定放射性核纯度大于 99 %;用 HPLC 法测定¹⁸FDOPA 的放化纯度和化学纯度,分别为大于 95 %和 99 %;¹⁸FDOPA 注射液在 6 h 内放化纯度没有明显变化;异常毒性试验、无菌、无热原试验符合药典要求。

大鼠体内分布初步实验结果表明,合成的¹⁸F DOPA 在 120 min 时脑内纹状体与小脑有很高的放射性比值(3.3/1),可望用于帕金森氏病的正电子发射断层显像(PET)研究。有关¹⁸FDOPA 的合成改进及其临床前药理实验正在研究中。

3 结论

以硝基藜芦醛为前体,经亲核氟化,还原碘化,手性相转移催化剂烷基化,水解等四步反应合成了¹⁸FDOPA。最终产物的对映纯度和放化纯度分别大于 95 %和 99 %,总的合成时间小于 120 min,总放化产额约为 6.3 %。虽然本方法放化产额较低,总合成时间较长,但操作较简

便,经改进后会大大提高放化产额,缩短反应时间,从而可大量合成 ^{18}F FDOPA,使 ^{18}F FDOPA 自动合成成为可能。手性相转移催化烷基化是合成 ^{18}F FDOPA 较为简单实用的方法。本研究不仅为 ^{18}F FDOPA的放化合成及其对映纯度的测定提供了简便实用的方法,而且为其它 ^{18}F 标记 L-氨基酸 PET 显像剂的研制提供了可靠的技术。

致谢:南方 PET 中心王明芳同志为本实验提供了放射性核素 ^{18}F ,黄祖汉教授为本研究立项提供了帮助,在此一并致谢。

参考文献:

- [1] TANG Gang-hua. Positron Emission Tomography Imaging and Drug Development [J]. Acta Pharm Sin, 2001, 36(6):470~474.
- [2] HOEGERLE S, SCHNEIDER B, KRAFT A, et al. Imaging of a Metastatic Gastrointestinal Carcinoid by F-18-DOPA Positron Emission Tomography[J]. Nuklearmedizin, 1999, 38(4):127~130.
- [3] LUXEN A, GUILLAUME M, MELEGA W P, et al. Production of 6-[^{18}F]fluoro-L-DOPA and its Metabolism in Vitro—a Critical Review[J]. Nucl Med Biol, 1992, 19(2):149~158.
- [4] LEMAIRE C, DAMHAUT P, PLENEVAUX A, et al. Enantioselective Synthesis of 6-[fluorine-18]fluoro-L-dopa From No-Carrier-Added Fluorine-18-fluoride[J]. J Nucl Med, 1994, 35(12):1996~2002.
- [5] LEMAIRE C, GUILLOUET S, PLENEVAUX A, et al. The Synthesis of 6-[^{18}F]fluoro-L-dopa by Chiral Catalytic Phase-Transfer Alkylation[J]. J Labelled Compd Radiopharm, 1999, 42 (suppl):S113~S115 (Abstract).
- [6] REDDY G N, HAEBERLI M, BEER H F, et al. An Improved of No-Carrier-Added(NCA) 6-[^{18}F]fluoro-L-DOPA and its Remote Routine Production for PET Investigations of Dopaminergic Systems[J]. Int J Appl Radiat Isot, 1993, 44(4):645~649.
- [7] COREY E J, XU F, NOE M C. A Rational Approach to Catalytic Enantioselective Enolate Alkylation Using a Structurally Rigidified and Defined Chiral Quaternary Ammonium Salt Under Phase Transfer Conditions [J]. J Am Chem Soc, 1997, 119(50):12414~12415.
- [8] LUXEN A, PERLMUTTER M, BIDA G T, et al. Remote, Semiautomated Production of 6-[^{18}F]fluoro-L-dopa for Human Studies With PET[J]. Int J Appl Radiat Isot, 1990, 41(3):275~281.
- [9] PAPPE A K, GODDARD W A. Resolution of Underivatized Amino Acids by Reversed-phase Chromatography[J]. J Am Chem Soc, 1980, 102(15):5115~5117.

SYNTHESIS OF 6-[^{18}F]FLUORO-L-DOPA

TANG Gang-hua^{1,2}, ZHANG Lan¹, TANG Xiao-lan², WANG Yong-Xian¹, YIN Duan-zhi¹

(1. Radiopharmaceutical Research Centre, Shanghai Institute

of Nuclear Research, the Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China;

2. Nanfang PET Centre, Nanfang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: 6-[^{18}F]Fluoro-L-dopa (^{18}F FDOPA) is synthesized from the starting material nitro-vera-

(下转第 234 页, continued on page 234)

DETERMINATION OF THE STABILITY CONSTANT OF NpO₂F COMPLEX

GAN Xue-yin

(China Institute of Atomic Energy, P. O. Box 275(93), Beijing 102413, China)

Abstract : The stability constants ($\ln K$) of NpO₂F complex in 1.0 mol/kg NaClO₄ solution at 288, 298, 308 and 318 K have been determined to be 1.49 ± 0.07 , 1.47 ± 0.04 , 1.28 ± 0.05 and 1.00 ± 0.11 by solvent extraction technique with HEDHP. For the reaction of $\text{NpO}_2^+ + \text{F}^- = \text{NpO}_2\text{F}$, its G_{287} , H and S are calculated to be (-8.37 ± 0.20) kJ/mol, (-29.1 ± 6.0) kJ/mol and (-71.1 ± 19.7) J/(mol·K), respectively.

Key words : solvent extraction; NpO₂F; stability constant

(上接第 216 页, continued from page 216)

traldehyde via multi-step reaction by nucleophilic displacement combined with chiral catalytic phase-transfer alkylation techniques and the enantiomeric purity of ¹⁸FDOPA is determined by HPLC method using a chiral mobil phase and reversed-phase C18 column. The results show that the total time of synthesis is less than 120 min, the total radiochemical yield from potassium [¹⁸F] fluoride is about 6.3% with decay-correction and the enantiomeric purity and radiochemical purity are high than 95% and 99%, respectively. The practical techniques are provided for the radiochemical synthesis and enantiomeric purity determination of ¹⁸FDOPA and other [¹⁸F]fluoro-*L*-amino acids.

Key words : 6- [¹⁸F]fluoro-*L*-dopa; nucleophilic displacement; chiral catalytic phase-transfer alkylation; enantiomeric purity; HPLC method using a chiral mobil phase and reversed-phase C18 column