

文章编号: 0253-9950(2002)01-0051-05

苯酰胺类 D₂ 受体新配体的合成, ¹²⁵I 标记及生物分布研究

贾 芳, 刘正浩, 刘伯里

北京师范大学 化学系 北京 100875

摘要:合成了苯酰胺类 D₂ 受体配体 (S)-N-[(1-羟乙基-2-四氢吡咯烷基) 甲基]-5-氨基-2,3-二甲氧基苯甲酰胺 (HEABZM), 用红外光谱、核磁共振和质谱法进行了表征。以 HEABZM 为标记前体, 制备了 (S)-N-[(1-羟乙基-2-四氢吡咯烷基) 甲基]-5-氨基-4-¹²⁵I-2,3-二甲氧基苯甲酰胺。标记率为 79%, 经萃取分离后, 纯化度在 90% 以上。小鼠体内初步生物分布研究表明, 该配合物在小鼠脑中有一定的区域分布, 纹状体与小脑的比值略大于 1。

关键词:多巴胺 D₂ 受体; ¹²⁵I 标记; 苯甲酰胺

中图分类号: R817 **文献标识码:** A

多巴胺 (DA) 是中枢神经系统中一种独立的神经递质, 它与多种神经疾病有关, 如帕金森氏症, 早发痴呆症, 运动迟缓症, 慢性舞蹈症等。对多巴胺受体放射性配体的研究可以从药理、生理和病理等方面揭示 DA 受体的性质。因此, 国内外报道了许多可用于正电子发射断层显像 (PET) 或单光子发射断层显像 (SPECT) 的多巴胺 D₂ 受体显像剂^[1~4]。其中, 与 SPECT 联用的碘标记多巴胺 D₂ 受体显像剂由于具有易于推广使用, 费用低等优点一直受到关注, 碘标记苯酰胺类 D₂ 受体显像剂又以其更好的选择性, 更高的亲和性成为研究热点。文献[5]对这类配体的结构与活性关系进行了探讨, 初步得到了影响配体与受体相互作用的因子, 即苯环上取代基的电荷越小, 该类化合物与 D₂ 受体作用的亲和力越大。根据这个结果, 本文设计合成一种新的苯酰胺类 D₂ 受体配体 (S)-N-[(1-羟乙基-2-四氢吡咯烷基) 甲基]-5-氨基-2,3-二甲氧基苯甲酰胺 (HEABZM), 对其进行¹²⁵I

标记, 旨在验证文献[5]的理论工作结果, 寻找对 D₂ 受体具有高亲和力的新配体。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

邻香草醛, 化学纯, 北京市芳草医药研制服务公司; 硫酸二甲酯, 分析纯, 北京市昌平石鹰化工厂; 硝酸银、三乙胺, 分析纯, 北京化工厂; L-脯氨酸, 层析纯, 北京红星生化技术公司; 氯化亚砷, 化学纯, 北京市昌平石鹰化工厂; 环氧乙烷, 化学纯, 北京化学试剂公司; 四氢铝锂, 分析纯, 进口分装; 锡粒, 分析纯, 齐齐哈尔市化学试剂厂; Na¹²⁵I, 中国原子能科学研究院同位素研究所。Necolet-170SX 型傅立叶红外仪; Varian-200MHz, Varian-300MHz 核磁共振仪; Heratas CHN-Rapid 元素分析仪; Kofler 熔点仪; ZHP-5 # 型质谱仪。

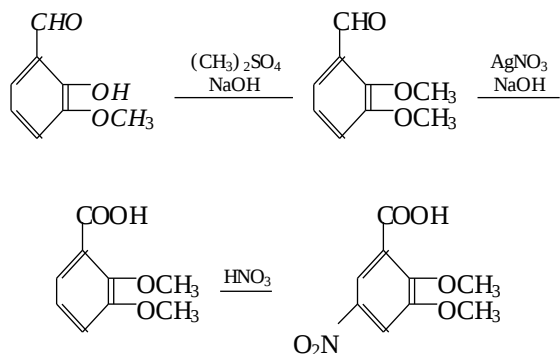
1.2 苯环部分的合成

合成路线如下:

收稿日期: 2000-09-13; 修订日期: 2001-08-09

基金项目: 国家自然科学基金重点基金资助项目 (29731020-1)

作者简介: 贾 芳 (1972 -), 女, 天津人, 博士研究生, 放射性药物化学专业。



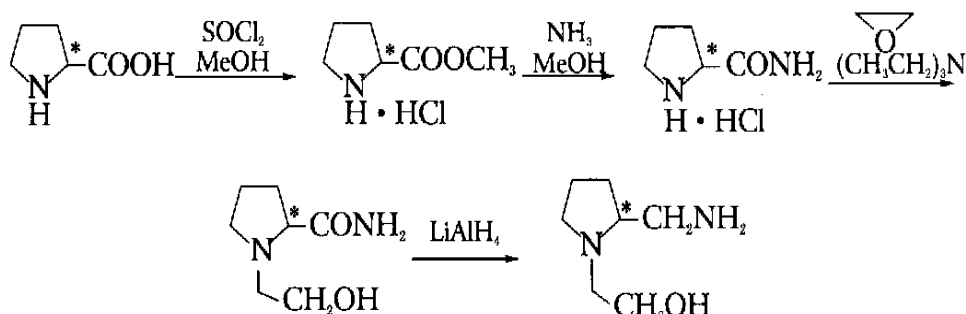
1.2.1 2,3-二甲氧基苯甲醛的合成 按文献[6]的方法合成。得到浅黄色晶体 35 g, 熔点为 47 ~ 50 , 产率为 60 %。

1.2.2 2,3-二甲氧基苯甲酸的合成 按文献[7]的方法合成。得到白色固体 5.15 g, 熔点为 124 ~ 127 , 产率为 67 %。

1.2.3 2,3-二甲氧基-5-硝基-苯甲酸的合成 反应瓶中加入 30 mL 浓硝酸, 2 g (0.01 mol) 2,3-二甲氧基苯甲酸。室温搅拌下, 缓慢滴入浓硫酸, 出现黄色沉淀后再继续搅拌 30 min。过滤, 用水洗涤沉淀, 抽滤, 干燥。得到浅黄色固体 1.8 g, 熔点 156 ~ 158 , 产率 84.5 %。经红外光谱法 (IR) 表征 (KBr 压片), $\sigma_{\text{COOH}} = 1\,684\text{ cm}^{-1}$ 。

1.3 四氢吡咯部分的合成

合成路线如下 (* 为手性 C 原子部位) :



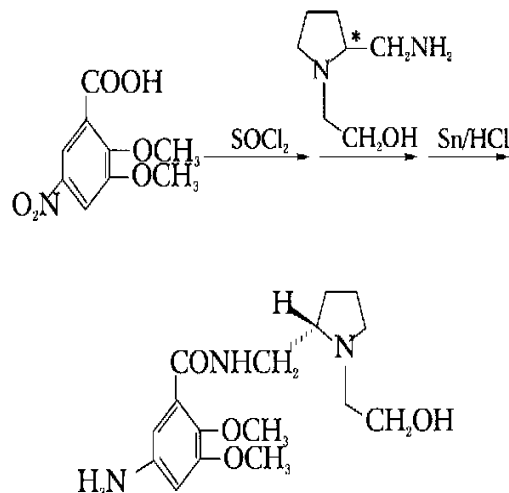
1.3.1 L-脯氨酸盐酸盐的合成 按文献[8]的方法合成。得到白色针状晶体 3.30 g, 熔点 185 ~ 186 , 产率 54 %。元素分析结果 (%) 为: C, 39.44; H, 7.24; N, 18.81。理论值: C, 39.87; H, 7.31; N, 18.60。

1.3.2 N-羟乙基脯氨酸酰胺的合成 反应瓶中加入 200 mL 无水甲醇, 15 g (0.10 mol) L-脯氨酸盐酸盐和 30 mL 重蒸过的三乙胺, 室温搅拌过夜。冰浴下滴加 25 mL (0.50 mol) 环氧乙烷, 滴加完毕, 室温搅拌 4 h, 加热至 50 , 反应 3 h, 室温搅拌过夜。减压蒸去溶剂, 得到黄色油状物, 用适量的四氢呋喃溶解, 放置过夜, 析出白色晶体 (为三乙胺盐酸盐)。过滤, 滤液减压除去溶剂, 得到黄色油状物 40 g。用体积比为 1:1 的甲醇-氯仿作展开剂, 硅胶柱分离。得到黄色油状物 11.6 g, 产率 73.42 %, $R_f = 0.61$ 。IR 光谱法 (KBr) 表征为 $\sigma_{\text{OH}} = 3\,360\text{ cm}^{-1}$, $\sigma_{\text{CONH}} = 1\,667\text{ cm}^{-1}$ 。

1.3.3 酰胺的还原反应 按文献[9]的方法合成。得到产物为淡黄色液体 0.7 g, 产率 19 %。

1.4 (S)-N[(1-羟(乙基-2-四氢吡咯烷基)甲基]-5-氨基-2,3-二甲氧基苯甲酰胺的合成

合成路线如下:



1.4.1 (S)-N[(1-羟(乙基-2-四氢吡咯烷基)甲基]-5-硝基-2,3-二甲氧基苯甲酰胺的合成 反应瓶中加入 40 mL 甲苯, 0.6 g (2.64 mmol) 5-硝基-2,3-二甲氧基苯甲酸, 0.064 mL 二甲基甲酰胺 (DMF), 室温下滴加 0.7 mL SOCl_2 (9.83 mmol), 升温至 65 反应 1 h。体系冷却后, 减压蒸去溶剂, 得到黄色油状物。

反应瓶中加入 30 mL CH_2Cl_2 , 2.28 g (0.016 mol) 1.3.3 步产物, 将上述酰氯溶于 10 mL CH_2Cl_2 , 冰浴下滴加入三口瓶中, 保持冰浴反应 24

h。反应停止后,减压蒸去溶剂,得到黄棕色油状物,加入 1 mol/L NaOH 溶液 20 mL,用乙醚萃取 3 次,弃去水相。有机相用 1 mol/L HCl 反萃 3 次,水相碱化后用乙醚萃取 3 次。有机相用无水 MgSO₄ 干燥,减压蒸去溶剂,得到黄棕色油状物,以体积比为 9:1 的氯仿-甲醇为展开剂,硅胶柱分离,得到产品 0.8 g, $R_f = 0.25$, 产率 86%。IR 光谱法 (KBr) 分析结果为: $\sigma_{\text{CONH}} = 1\,667\text{ cm}^{-1}$; ¹H NMR(D₂O) 分析结果(δ): 1.6~2.2(m, 4H), 2.4~2.8(m, 2H), 2.9~3.3(m, 2H), 3.3~3.6(m, 2H), 3.6~3.9(m, 3H), 3.9~4.2(m, 6H), 7.9(s, 1H), 8.4(s, 1H)。

1.4.2 (S)-N[(1-羟(乙基-2-四氢吡咯烷基)甲基]-5-氨基-2,3-二甲氧基苯甲酰胺的合成 反应瓶中,加入 30 mL 1 mol/L HCl 和 0.2 g (0.566 mmol) 上一步产物,2 g (0.017 mol) 锡粒,氮气下室温搅拌反应 7 h,反应停止。反应混合液碱化,CH₂Cl₂ 萃取,有机相用无水硫酸钠干燥,减压蒸去溶剂,得到黄色油状物,以体积比为 2:1 的氯仿-甲醇为展开剂,硅胶柱分离,得到产品 0.1 g, $R_f = 0.41$, 充氮,置于冰箱内保存。产率 55.6%。IR 光谱法 (KBr), 分析结果为: $\sigma_{\text{CONH}} = 1\,667\text{ cm}^{-1}$; ¹H NMR(D₂O) 分析结果(δ)为: 1.6~2.2(m, 4H), 2.4~2.8(m, 2H), 2.9~3.3(m, 2H), 3.3~3.6(m, 2H), 3.6~3.9(m, 3H), 3.9~4.2(m, 6H), 6.4(s, 1H), 7.0(s, 1H); MS(FAB⁺, m/z) 法分析结果为: 324。

1.5 (S)-N[(1-羟(乙基-2-四氢吡咯烷基)甲基]-5-氨基-4-¹²⁵I-2,3-二甲氧基苯甲酰胺的制备

1.5.1 放射性标记 在反应瓶中依次加入 pH = 4 的 HAC-NH₄AC 缓冲溶液 150 μ L, 配体乙醇溶液 50 μ L (50 μ g), Na¹²⁵I 溶液 37 MBq, 10 μ L 体积比为 2:1 的 H₂O₂-HAC 溶液, 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴反应 40 min, 加入 0.1 mL Na₂SO₃ 溶液 (166 mg/mL) 以淬灭反应, 加 0.1 mL NH₄OH 使反应液成碱性。用 CCl₃ 萃取 3 次, 每次 1 mL, 有机相在 N₂ 保护下吹干, 用 50 μ L 乙醇溶解, 生理盐水稀释备用。

1.5.2 层析鉴定和放射化学纯度的测定 以硅胶纸为支持体, 用体积比 9:0.1:0.1 的氯仿-甲醇-氨水为展开剂, 测定该体系中标记物和 ¹²⁵I₂ 的 R_f , 计算标记物的放射化学纯度。

1.6 小鼠体内生物分布实验

取体重约 18~20 g 的昆明种小白鼠 15 只, 尾

静脉注射 0.1 mL (约 0.74 MBq) ¹²⁵I 标记物溶液, 分别在注射后 2, 5, 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 ID。

2 结果和讨论

2.1 影响标记率的主要因素

2.1.1 pH 值对标记率的影响 在 20 $^{\circ}\text{C}$, 反应 10 min 条件下, pH 值对标记率 Y 的影响结果列入表 1。从表 1 看出, 标记率随 pH 值增大而升高, 在 pH = 4 时达到最佳值, 因此选择最佳介质为 pH = 4 的 HAC-NH₄AC 溶液。

表 1 pH 值对标记率的影响

Table 1 The influence of pH value on the labeling yield					
pH	2.1	3.0	4.0	5.2	6.0
Y/ %	17.5	22.8	35.6	16.4	15.8

2.1.2 反应温度对标记率的影响 不同温度下, 标记反应进行 10 min 时的标记率列入表 2。由表 2 可见, 当水浴加热到 40 $^{\circ}\text{C}$ 时, 标记率达到最佳值。因此选择 40 $^{\circ}\text{C}$ 为标记反应的温度。

表 2 反应温度对标记率的影响

Table 2 The influence of reaction temperature on the labeling yield				
t/ $^{\circ}\text{C}$	20	30	40	50
Y/ %	15.1	19.8	34.6	27.5

2.1.3 配体用量对标记率的影响 由于受体显像需要高比度, 在满足标记率需要的前提下应当尽量降低配体用量。表 3 给出了 40 $^{\circ}\text{C}$, 反应 10 min 条件下配体量不同时的标记率。从表 3 可见, 配体用量的增加对标记率的影响很小, 因而选用较低的配体用量 25~50 μ g。

表 3 配体用量对标记率的影响

Table 3 The influence of ligand quantity on the labeling yield					
m/ mg	25	50	75	100	175
Y/ %	33.2	34.6	35.4	36.1	35.8

2.1.4 反应时间对标记率的影响 表 4 给出了 40 $^{\circ}\text{C}$ 时不同反应时间下的标记率。从表 4 看出,

当反应时间为 40 min 时得到最佳标记率,因此选择 40 min 为标记反应时间。

表 4 反应时间对标记率的影响
Table 4 The influence of reaction time
on labeling yield

t/min	10	20	30	40	50	60
$Y/\%$	32.3	63.2	69.8	79.4	75.1	67.9

2.2 层析鉴定和放射化学纯度的测定

层析体系展开结果显示:最终标记化合物的 $R_f = 0.7 \sim 0.8$, $^{125}\text{I}^-$ 的 $R_f = 0.0 \sim 0.1$, $^{125}\text{I}_2$ 的 $R_f =$

$0.9 \sim 1.0$ 。因此可通过该体系确认标记物的生成。在 1.5.1 节条件下得到的最佳标记率为 79.4%,萃取分离后得到的最终标记化合物的放射化学纯度在 90%以上。

2.3 ^{125}F HEABZM 在小鼠体内的生物分布

^{125}F HEABZM 在小鼠体内的分布数据列入表 5。纹状体与小脑的摄取比值列入表 6。从表 5,表 6 数据可以看出, ^{125}F HEABZM 在小鼠脑中有一定的初始摄取,纹状体与小脑的摄取比值略大于 1,并随时间的延长而增大,表明该配合物可能在纹状体浓集,有深入研究的意义。同时也可以看出该配合物的脑与血的摄取比值偏低,需要作进一步的改进。

表 5 ^{125}F HEABZM 在小鼠体内的分布
Table 5 Biodistribution of ^{125}F HEABZM in mice

组织 (Tissues)	ID/ ($\% \text{ g}^{-1}$)				
	2 min	5 min	15 min	30 min	60 min
脑 (Brain)	0.98 ± 0.03	0.60 ± 0.05	0.42 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.33 ± 0.04
小脑 (Cerebellum)	1.02 ± 0.05	0.87 ± 0.09	0.54 ± 0.07	0.41 ± 0.02	0.40 ± 0.04
纹状体 (Striatum)	1.18 ± 0.16	0.98 ± 0.13	0.80 ± 0.02	0.51 ± 0.04	0.59 ± 0.13
心 (Heart)	4.26 ± 0.39	3.18 ± 0.21	2.14 ± 0.16	1.25 ± 0.04	1.12 ± 0.14
肝 (Liver)	10.96 ± 1.55	11.51 ± 1.03	8.34 ± 1.13	4.45 ± 0.31	5.34 ± 0.01
肺 (Lung)	9.69 ± 0.56	5.89 ± 0.46	4.27 ± 0.54	2.70 ± 0.17	2.23 ± 0.25
肾 (Kidney)	37.77 ± 1.30	19.41 ± 0.44	11.29 ± 1.16	4.27 ± 0.28	2.91 ± 0.34
血液 (Blood)	12.07 ± 1.18	7.40 ± 0.44	4.73 ± 0.68	3.34 ± 0.18	2.38 ± 0.17

注(Note): $n = 3$

表 6 纹状体与小脑的摄取比值
Table 6 Ratio of the uptake between striatum and cerebellum

t/min	2	5	15	30	60
R	1.15 ± 0.13	1.21 ± 0.15	1.19 ± 0.08	1.68 ± 0.23	1.52 ± 0.12

3 结 论

在理论设计指导下,首次合成了新配体(S)-N-[(1-羟乙基-2-四氢吡咯烷基) 甲基]-5-氨基-2,3-二甲氧基苯甲酰胺(HEABZM),对其进行了结构确认,完成了碘标记。标记方法便利,得到的标记

化合物放化纯度较高。小鼠体内动物分布初步研究表明, ^{125}F HEABZM 可能在纹状体有一定的浓集量,需要作进一步深入研究。

致谢:感谢唐志刚、孟昭兴老师在研究工作中给予的支持和帮助。

参考文献:

- [1] KUNG H F, GUO Y Z, BILLINGS J, et al. Preparation and Biodistribution of [¹²⁵I] IBZM: A Potential CNS D-2 Dopamine Receptor Imaging Agent [J]. Nucl Med Biol, 1988, 15(2): 195.
- [2] HALLDIN CHRISTER, HOGBERG Thomas, et al. Fluorine-18-labelled NCQ 115, a Selective Dopamine D-2 Receptor Ligand. Preparation and Positron Emission Tomography [J]. Nucl Med Biol, 1994, 21(4): 627.
- [3] HALLDIN Christer, FARDE Lars, HOGBERG Thomas, et al. Carbon-11-FLB 457: A Radioligand for Extrastriatal D₂ Dopamine Receptors [J]. J Nucl Med, 1995, 36(7): 1275.
- [4] KUNG M P, KUNG H F, et al. Fluorinated and Iodinated Dopamine Agents: D₂ Imaging Agents for PET and SPECT [J]. J Med Chem, 1993, 36: 221.
- [5] 孟昭兴, 刘伯里. 中枢神经系统受体显像剂研究 I. 苯酰胺类 D₂ 受体显像剂结构效应研究 [J]. 同位素, 1997, 10(2): 71.
- [6] Vogel's, Textbook of Practical organic chemistry (4th), 1978, 4: 124.
- [7] 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.
- [8] FLOURET G, MORCAN R, GENDRICH R. Synthesis of the Thyrotropin-Releasing Hormone Enantiomer and Some Diastereoisomers and in Vitro Studies of Their Biological Activity [J]. J Med Chem, 1973, 16: 137.
- [9] HOGBERG T, RÄMSBY S, STRÖM P. Efficient Stereocconservative Syntheses of 1-Substituted (S)- and (R)-2-Aminomethylpyrrolidines [J]. Acta Chem Scand, 1989, 43(7): 660.

SYNTHESIS AND LABELLING OF DOPAMINE D₂ RECEPTOR NEW LIGAND

JIA Fang, LIU Zheng-hao, LIU Bo-li

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

Abstract: One desired dopamine agents, (S)-N-[(1-hydroxyethyl-2-pyrrolidinyl) methyl]-5-amino-2,3-dimethoxybenzamide, is synthesized in the first time. The chemical structure is confirmed by spectrum data. The radioiodination of the compound with ¹²⁵I is accomplished by an electrophilic iodination reaction using hydrogen peroxide as an oxidant and the labeled compound, (S)-N-[(1-hydroxyethyl-2-pyrrolidinyl) methyl]-5-amino-4-¹²⁵I-2,3-dimethoxybenzamide, is obtained. The labelling yield is about 79% and the radiochemical purity is higher than 90% after extraction. The regional distribution of this complex in the brain (ratio of striatum/cerebellum is higher than 1) displays the selective localization.

Key words: D₂ dopamine receptor; substituted benzamide; radioiodination