

文章编号: 0253-9950(2002)04-0232-04

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记苯托品类多巴胺转运蛋白显像剂的制备和小鼠体内分布

张春艳, 贾红梅, 贾 芳, 刘伯里

北京师范大学 化学系, 北京 100875

摘要: 合成了以苯托品(Benztropine)为前体的含巯基的单齿化合物, 其光谱数据和结构相符。使用配体交换法与 3-硫杂-1,5-戊二硫醇(SSS)配位合成了 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 的“3+1”型混配螯合物 a。螯合物 a 在小鼠脑中有一定的初始摄取和滞留量, 在 $t = 5 \text{ min}$ 时, $\text{ID} = 1.03 \text{ \% / g}$; 对纹状体也有一定的亲和力, 纹状体与小脑摄取比值随时间延长而增加, 在 $t = 60 \text{ min}$ 时, $R(\text{纹状体} / \text{小脑}) = 1.3$ 。混配螯合物有成为多巴胺转运蛋白显像剂的可能。

关键词: 多巴胺转运蛋白; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$; 苯托品(Benztropine); 生物分布; 纹状体

中图分类号: O614.712 **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)是大脑功能活动的重要系统之一。多巴胺转运蛋白的功能是将突触间隙的多巴胺运回突触前膜, 它不仅是控制脑内多巴胺水平的关键因素, 而且是可卡因的作用部位^[1]。近年来, 对多巴胺转运蛋白显像剂的研究较多。其中 $\text{PE2I}^{[2]}$, ^{123}I FP- β -CIT^[3] 等对多巴胺转运蛋白有较好的结合和选择性。当 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 螯合基团引入中枢神经系统受体配基分子后, 配体分子的大小、结构、脂溶性等发生显著改变, 但大部分 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记的中枢神经系统受体显像剂与受体的亲和力和选择性都不够理想。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记多巴胺转运蛋白显像剂的研制是放射性药物领域的一个难点。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TRODAT-1 是目前最为成功的一个多巴胺转运蛋白显像剂^[4]。苯托品(Benzotropine)类化合物的结构不仅具有可卡因(Cocaine)和苯托品(Phenyltropine)类化合物的托品(Tropine)环, 而且具有多巴胺重吸收抑制剂 GBR 类化合物的二苯醚功能基。定量构效关系研究表明, Benztropine 类化合物的 N 原子上连接较大取

代基团对其性质无明显影响, 而苯环取代基的引入将对其与多巴胺转运蛋白的亲和力和选择性都有较大影响。在定量构效研究基础上^[5], 本文以 Benztropine 为前体, 对受体配基的化学结构进行选择修饰并用 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 进行标记, 探讨其成为多巴胺转运蛋白显像剂的可能性。

1 实验部分

1.1 主要试剂和仪器

二(4-氯苯基)甲醇(Benzhydrol), 托品盐酸盐(Tropine hydrate), 均为分析纯, ACROS ORGANICS 公司产品; 亚硫酰氯、草酰氯、 α -巯基乙酸、苯甲酰氯, 均为分析纯, 北京化工厂产品; 3-硫杂-1,5-戊二硫醇(SSS), 分析纯, Aldrich 化学有限公司产品。

Necolet-170SX 傅立叶红外仪, American Necolet 公司产品; DRX500 MHz 核磁共振仪, Swish Biuker 公司产品; TrisGC2000 质谱仪, American Finnigan 公司产品。

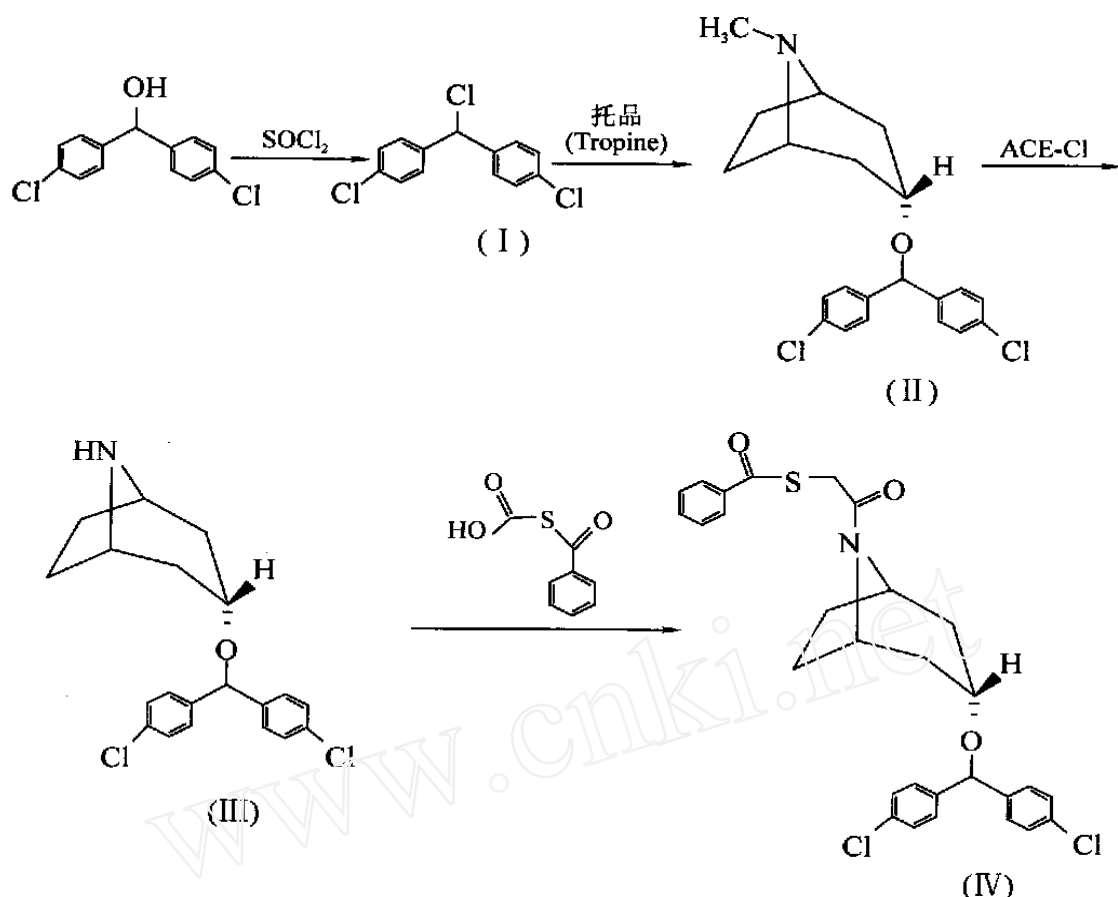
1.2 配体的合成

合成路线^[5~7]如下:

收稿日期: 2002-01-25; 修订日期: 2002-06-18

基金项目: 北京师范大学青年基金资助项目(272007)

作者简介: 张春艳(1976—), 女, 黑龙江人, 硕士, 无机化学专业。



1.2.1 二(4-氯苯基)氯甲烷()的合成 在机械搅拌,冰浴,通 N_2 气的条件下,将0.3 g二(4-氯苯基)甲醇(Benzhydrol)加入到25 mL SOCl_2 中,并加入一滴二甲基甲酰胺(DMF)。继续搅拌1 h,撤去冰浴后加热令其回流72 h。除去反应液中未反应的亚硫酰氯(SOCl_2)及DMF。以体积比为3:1的二氯甲烷-环己烷混合溶剂为淋洗液进行硅胶柱(G254)分离纯化,收集 $R_f = 0.8$ 的淋洗液,减压除去溶剂,得到浅黄色粘稠的油状物() 0.258 g,产率为86%。

1.2.2 N-甲基-3 α -二(4-氯苯基)甲氧基托品()的合成 按文献[6]方法合成。以体积比为1:1的丙酮-乙醚的混合溶剂对产物进行重结晶,得到白色粉末状固体0.61 g,产率为37.6%,熔点为215~217 (文献值^[6]为217~219)。

1.2.3 3 α -二(4-氯苯基)甲氧基去甲基托品()的合成 按文献[7]方法合成。以体积比为5:1的丙酮-二氯甲烷混合溶剂对产物进行重结晶,得到白色粉末状固体0.35 g,产率为77.1%,熔点为230~231。

1.2.4 S-苯甲酰基巯基乙酸的合成 按文献[8]

方法合成。以体积比为1:1的乙酸乙酯-环己烷进行重结晶,得到白色针状晶体,产率为82%,熔点为103~104 (文献^[8]值为102~103)。

1.2.5 N-(S-苯甲酰基)巯基-3 α -二(4-氯苯基)甲氧基去甲基托品()的合成 将0.184 g S-苯甲酰基巯基乙酸溶于无水 CH_2Cl_2 中,在搅拌下滴入1 mL 新蒸的草酰氯,加入无水的0.02 mL DMF,于室温下搅拌4 h。减压除去溶剂,得到黄色固体^[8],将得到的酰氯溶于30 mL 四氢呋喃。

取0.265 g 化合物(),用 CHCl_3 溶解后,用0.5 mol/L 的NaOH溶液洗涤,收集有机相,用无水 Na_2SO_4 干燥过夜,将所得无色澄清溶液减压除去溶剂,得到无色透明的油状物。用20 mL 四氢呋喃将其溶解后,加入0.15 mL 三乙胺。在 N_2 气保护下,将此混合物溶液缓慢滴入置于冰浴中的新制的酰氯的四氢呋喃溶液中,并在此条件下,反应5 h。得到橙黄色浑浊液,过滤除去其中的白色粉末后,滤液减压除去溶剂,得到棕红色粘稠油状物,用 CH_2Cl_2 将其溶解后,用饱和 NaHCO_3 溶液洗涤3次,收集有机相。然后用10 mL 0.3 mol/L 的HCl洗涤有机相后,用无水 Na_2SO_4 干

燥过夜。将干燥后的黄色溶液减压除去溶剂,得到橙黄色油状物。将其用体积比为 1 2 的乙酸乙酯-环己烷的混合溶剂进行重结晶,过滤除去深红色沉淀,将所得的黄色溶液减压除去溶剂后,用丙酮进行重结晶。过滤除去析出的白色固体,溶液减压除去溶剂,得到桔色油状物,将此油状物以体积比为 100 1 的二氯甲烷-丙酮的混合溶剂为淋洗液,使用硅胶柱(G254)进行分离纯化,收集 $R_f = 0.38$ 的淋洗液,减压除去溶剂,得到 85 mg 极粘稠的桔红色油状化合物(),产率为 23.8 %。

1.3 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记配合物的制备

1.3.1 葡庚糖酸钠(GH)的 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记 取亚锡葡庚糖酸钠冻干品一瓶,加入新鲜的 0.1 mL $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4^-$ 淋洗液(7.4×10^7 Bq/mL),于 30 ~ 40 水浴中加热反应 10 min。

1.3.2 化合物()的水解 在青霉素小瓶中加入 1 g/L 的化合物()的 95 %的乙醇溶液 0.2 mL,用 0.2 mol/L NaOH 溶液调节 pH 值为 12 左右,在常温下反应 15 min,完成脱保护作用。

1.3.3 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记化合物的制备 在青霉素小瓶中加入 0.1 mL (1 g/L) 已水解的单齿配体(化合物())溶液和 0.1 mL (1 g/L) 三齿配体 3-硫杂-1,5-戊二硫醇(SSS)水溶液,并且调节 pH = 6,加入 0.2 mL 制备好的 $^{99}\text{Tc}^m$ -GH 溶液,于 60 的水浴下反应 30 min,完成标记反应。

1.3.4 层析鉴定及 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记化合物放化纯度的测定 GH 的鉴定用生理盐水-聚酰胺薄片体系,在此体系下, $^{99}\text{Tc}^m$ -GH 的 R_f 值为 0.9 ~ 1.0, $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4^-$ 的 R_f 值为 0.0 ~ 0.1, $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 的

R_f 值为 0.0 ~ 0.1。标记终产物的鉴定采用 $V(\text{CH}_2\text{Cl}_2) : V(\text{CH}_3\text{COCH}_3) = 10 : 1$ 的聚酰胺薄片体系。在此条件下,标记化合物 a 的 R_f 值均为 0.9 ~ 1.0。在最佳标记条件下,可得到放化纯大于 90 %的标记化合物 a。

1.4 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记化合物在小鼠体内分布

将标记化合物 a 用生理盐水稀释至 1.8×10^7 Bq/mL。取体重约为 22 g 的昆明雌性小鼠,尾静脉注射 0.1 mL 标记液。分别于注射后 5, 15, 30, 60 min 断头处死。取主要脏器称重后,测量放射性计数。每个时相为 3 只小鼠。

2 结果和讨论

2.1 化合物()的表征

化合物()的图谱鉴定结果如下: ^1H NMR (CDCl_3 , δ): 2.010 ~ 2.039 (m, 4H), 2.220 ~ 2.245 (m, 2H), 2.365 ~ 2.380 (m, 2H), 2.410 ~ 2.440 (m, 2H), 3.827 (s, 2H), 7.210 ~ 7.227 (d, 4H), 7.301 ~ 7.317 (d, 4H), 5.354 (s, 1H), 4.042 (s, 1H), 7.809 ~ 7.825 (d, 2H), 7.956 ~ 7.970 (m, 3H)。MS(FAB+) m/z : 540 (理论值: 540)。IR(KBr): $\sigma(\text{CONH}) = 1705 \text{ cm}^{-1}$ 。

2.2 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记化合物 a 在小鼠体内的分布

$^{99}\text{Tc}^m$ 标记化合物 a 在小鼠体内的分布实验结果列入表 1。由表 1 可知,标记化合物 a 在血液中清除较快,60 min 时为 0.048 %/g;在肝和肾脏中的浓集持续偏高;在脑中有一定的初始摄取量,5 min 时可达到 1.03 %/g,在脑中也有一定的选择性,在纹状体与小脑中的比值随时间延长而增加。

表 1 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记化合物在小鼠体内的分布

Table 1 Biodistribution of the $^{99}\text{Tc}^m$ labeled compound in mice

组织 (Tissues)	ID/ (% g^{-1})			
	5 min	15 min	30 min	60 min
心(Heart)	8.33 $\pm$ 0.10	7.16 $\pm$ 0.24	4.11 $\pm$ 0.19	3.90 $\pm$ 0.13
肝(Liver)	30.6 $\pm$ 0.8	45.5 $\pm$ 1.4	37.2 $\pm$ 1.9	34.3 $\pm$ 2.8
肺(Lung)	63.1 $\pm$ 0.1	39.9 $\pm$ 0.9	33.0 $\pm$ 0.6	28.7 $\pm$ 2.4
肾(Kidney)	22.9 $\pm$ 0.6	17.6 $\pm$ 1.3	14.0 $\pm$ 0.9	7.55 $\pm$ 0.65
血(Blood)	30.7 $\pm$ 3.2	25.0 $\pm$ 0.9	13.6 $\pm$ 0.7	0.048 $\pm$ 3.27
大脑(Cerebrum)	0.85 $\pm$ 0.34	0.48 $\pm$ 0.02	0.34 $\pm$ 0.05	0.39 $\pm$ 0.21
小脑(Cerebellum)	1.48 $\pm$ 0.22	0.88 $\pm$ 0.04	0.63 $\pm$ 0.01	0.53 $\pm$ 0.04
纹状体(Striatum)	1.34 $\pm$ 0.12	0.84 $\pm$ 0.07	0.73 $\pm$ 0.02	0.70 $\pm$ 0.05
全脑(Brain)	1.03 $\pm$ 0.04	0.57 $\pm$ 0.02	0.44 $\pm$ 0.03	0.42 $\pm$ 0.03

注(Note): $n = 3$

将标记化合物 a 与 $^{99}\text{Tc}^m$ -TRODAT-1 的动物体内分布实验结果比较: 静脉注射 $^{99}\text{Tc}^m$ -

TRODAT-1 后 2 min 时,小鼠脑内摄取率为 0.43%,60 min 时, $R(\text{纹状体/小脑}) = 2.6^{[9]}$;而静脉注射标记化合物 a 后 5 min 时,小鼠脑摄取率为 0.57%, $R(\text{纹状体/小脑})$ 在注射后 60 min 时,达到 1.3。可见,标记化合物 a 的进脑量与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TRODAT-1 相当,但选择性偏低。

3 结 论

本文成功地合成了 Benztropine 类化合物——N-(S-苯甲酰基) 巯基-3 α -二(4-氯苯基) 甲氧基去甲基托品,并进行了结构确认。以此为配体,使用三齿配体(SSS),制备得到了 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记化合物 a。小鼠体内分布实验表明,标记化合物 a 的进脑量与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TRODAT-1 相当,但选择性偏低。如果 N-(S-苯甲酰基) 巯基-3 α -二(4-氯苯基) 甲氧基去甲基托品进行进一步的化学结构修饰,提高以 SSS 为三齿配体的标记化合物的选择性,有可能得到 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记的多巴胺转运蛋白显像剂。

参考文献:

- [1] BALTER M. New Clues to Brain Dopamine Control, Cocaine Addiction[J]. Science, 1996, 21: 909.
- [2] KUIKA J T, BAULIEU J L, HILTUNEN J, et al. Pharmacokinetics and Dosimetry of Iodine-123 Labelled PE2I in Humans, a Radioligand for Dopamine Transporter Imaging[J]. Eur J Nucl Med, 1998, 25: 531 ~ 534.
- [3] BOOIJ J, SOKOLEB E, STABIN M G, et al. Human Biodistribution and Dosimetry of [^{123}I]FT-CFT: A Potent Radioligand for Imaging of Dopamine Transporters[J]. Eur J Nucl Med, 1998, 25: 24 ~ 30.
- [4] KUNG H F, KIM H J, KUNG M P, et al. Imaging of Dopamine Transporters in Humans With Technetium-99 TRODAT-1[J]. Eur J Nucl Med, 1996, 23: 1527 ~ 1530.
- [5] 贾红梅,张春艳,孟昭兴,等. Benztropine 类多巴胺转运蛋白配体的 QSAR 研究[J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2001, 37: 74 ~ 78.
- [6] NEWMAN A H, KLINE R H, ALLEN A C, et al. Novel 4-Substituted and 4',4''-Disubstituted 3- α -(Diphenylmethoxy) tropane Analogs as Potent and Selective Dopamine Uptake Inhibitors[J]. J Med Chem, 1995, 38: 933 ~ 940.
- [7] AGOSTON G E, WU J H, IZENWASSER S, et al. Novel N-Substituted 3- α -(Bis(4-fluorophenyl)methoxy) tropane Analogs: Selective Ligands for the Dopamine Transporter[J]. J Med Chem, 1997, 40: 4239 ~ 4339.
- [8] 赵 霞. $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记的 D_2 受体显像剂及“3+1”型混和配体螯合物的研究[D]. 北京:北京师范大学化学系. 1999.
- [9] KUNG H F, MEEGALLA S, PLOSSL K, et al. Two Tc^{m} - $^{99}\text{N}_2\text{S}_2$ Complexes as Dopamine Transporter Imaging Agents[A]. In: MARINONI Nicolini, ULDGRICOMA ZZI, ed. Technetium, Rhenium and Other Metals in Chemistry and Nuclear Medicine[C]. Italy: SGE, 1999, 373 ~ 379.

SYNTHESIS, LABELING AND BIODISTRIBUTION OF TECHNETIUM-99-LABELLED BENZTROPINE ANALOGS AS DOPAMINE TRANSPORTER IMAGING AGENTS

ZHANG Chun-yan, JIA Hong-mei, JIA Fang, LIU Bo-li

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

Abstract: In developing $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -labelled dopamine transporter imaging agents, a new substituted compound is designed and synthesized. By tethering S_3 chelate system onto it, one technetium “3+1” complex is formed. Biodistribution studies are carried out in mice. The results demonstrate that the labeled compound(a) has the ability to penetrate the intergrade blood brain barrier(1.03 %/g), at 5 min, post injection and retains for a certain time in brain. The ST/CB is 1.3 at 60 min after iv injection in mice. It also shows that brain uptake and selectivity of labeled compound(a) are higher and further improving is needed.

Key words: dopamine transporter; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$; benztropine; biodistribution