

文章编号: 0253-9950(2010)01-0057-04

[¹²⁵I]TZDM 的制备

王武尚^{1,2}, 张锦明^{2,3}, 刘伯里²

1. 西北核技术研究所, 陕西 西安 710024; 2. 北京师范大学 化学学院, 北京 100875;

3. 解放军总医院 核医学科, 北京 100853

摘要: 优良的 A^β 显像剂必须对 A^β 斑块有较高的亲和性, 而体外竞争结合实验是筛选 A^β 斑块显像剂的有效方法, 实验中需要使用放射性配基 [¹²⁵I]TZDM。以对溴苯胺为起始原料, 经过四步反应合成了 [¹²⁵I]TZDM 的前体化合物 Bu₃Sn-TZDM, 并通过 ¹²⁵I 进行标记制备了 [¹²⁵I]TZDM, 标记率为 62.5%。粗产物通过 HPLC 分离后, 获得放射化学纯度大于 97% 的 [¹²⁵I]TZDM, 实际产率为 25%。

关键词: 阿尔茨海默病; [¹²⁵I]TZDM; A^β 斑块; A^β 显像剂

中图分类号: O614.712 **文献标志码:** A

Preparation of [¹²⁵I]TZDM

WANG Wu-shang^{1,2}, ZHANG Jin-ming^{2,3}, LIU Bo-li²

1. Northwest Institute of Nuclear Technology, Xi'an 710024, China;

2. College of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875, China;

3. Department Nuclear Medicine, the PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Abstract: An excellent A^β imaging agent must have high affinity for A^β plaques. The *in vitro* competition binding assay is an effective method for determining the affinity of unlabelled imaging agents for A^β plaques. [¹²⁵I]TZDM was often used as a radioactive ligand in the assay. In this paper, Bu₃Sn-TZDM, a precursor compound of [¹²⁵I]TZDM, was synthesized by four steps from 4-bromo-aniline. After the precursor compound was labeled with ¹²⁵I, crude [¹²⁵I]TZDM was obtained. The labelling yield is 62.5%. [¹²⁵I]TZDM is separated with HPLC and has more than 97% radiochemical purity. The actual yield is 25%.

Key words: Alzheimer's disease; [¹²⁵I]TZDM; A^β plaques; A^β imaging agent

随着社会老龄化的发展, 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD, 又称老年性痴呆症) 严重影响着老年人的身心健康和生活质量, 因此, 关于 AD 的研究日益受到各国政府和国内外学者的高度重视。A^β 斑块 (β-Amyloid plaques) 是

AD 病的一种生物标志物, 对 AD 的早期诊断和病情监测而言, 亲 A^β 斑块的试剂具有潜在的应用价值。以 AD 病理特征的 A^β 斑块为生物化学标志, 制备亲 A^β 斑块的放射性分子探针, 利用 PET 和 SPECT 技术可进行显像测定 A^β 斑块的

收稿日期: 2008-10-07; 修订日期: 2009-04-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 30640042)

作者简介: 王武尚 (1965—), 男, 陕西富平人, 博士, 副研究员, 放射性药物专业

位置和数量,对开发新的 AD 治疗方法和进一步了解 AD 的发病机制具有重要作用。

苯并噻唑类 $A\beta$ 显像剂具有非常大的发展潜力^[1],是根据硫磺素-T 发展而来,具有较高的脂溶性,有利于穿透 BBB,而且与 $A\beta$ 斑块也有很高的亲和性。 ^{11}C -6-OH-BTA-1 ([N -Me- ^{11}C] 2-[4-(methylamino)-phenyl]-6-hydroxybenzothiazole, 简称 PIB 或 ^{11}C -PIB)^[2-5],是人类历史上首次成功地显像检测 AD 病人脑内淀粉样斑块的显像剂。2-(对二甲氨基苯基)-6-碘苯并噻唑 (2-(4'-dimethylaminophenyl)-6-iodobenzothiazole, [^{125}I]TZDM) 是目前对 $A\beta$ 斑块亲和性最高的一个化合物^[6-7],体外结合实验表明, [^{125}I]TZDM 与 $A\beta$ 1-40 纤维结合物的解离常数 (K_d) 为 6×10^{-11} mol/L。目前,在研究 $A\beta$ 斑块显像剂的亲和性时,AD 脑组织切片非常缺乏,AD 转基因老鼠模型很昂贵。在此情况下,体外配体竞争结合实验是筛选 $A\beta$ 斑块显像剂的有效方法,采用人工合成的 $A\beta$ 1-40 纤维为受体, [^{125}I]TZDM 为放射性竞争配体,测量目标化合物的抑制常数^[7-10]。本工作以对溴苯胺为起始原料,经过四步反应合成 [^{125}I]TZDM 的前体化合物 Bu_3Sn -TZDM,通过 ^{125}I 标记反应和 HPLC 分离,制备高放射化学纯度的 [^{125}I]TZDM。

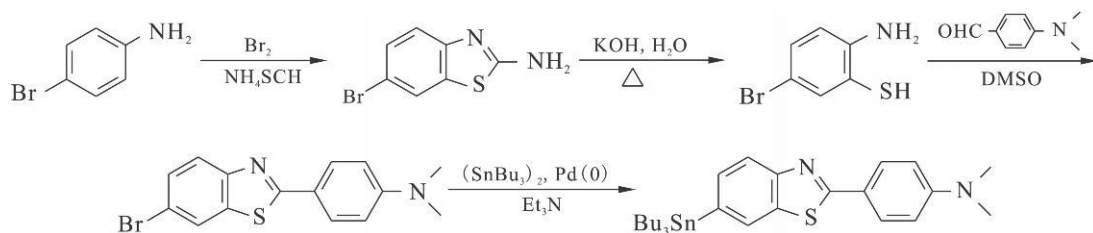
1 实验部分

1.1 试剂和仪器

对溴苯胺,纯度大于 99%,美国 Acros Organics 公司;柱层析硅胶,青岛海洋化工集团公司;4-二甲氨基苯甲醛,纯度大于 99%,美国 Alfa Aesar 公司;三丁基锡,纯度 95%,德国 Aldrich 公司;四(三苯磷)钼,纯度 99.8%,美国 Alfa Aesar 公司; [^{125}I]NaI,无载体,北京原子高科股份有限公司;3,3-二甲基戊二酸,英国 AVOCADO 公司;Necolet-170SX 傅立叶红外仪,美国 Necolet 公司;Avance 500 MHz 核磁共振仪,美国 Bruker 公司;TrisGC2000 质谱仪,美国 Finnigan 公司;Perkin-Elmer 240-C 型元素分析仪,美国 PE 公司;分析型 HPLC、2487 型紫外分光光度计、515 泵,美国 Waters 公司;Flow-Count 放射性检测器,美国 Bioscan 公司;HypersilC4 分离柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m),英国 ThermoHypersil 公司;XT4 显微熔点测定仪,北京泰克仪器有限公司,温度未校正。其它试剂均为国产分析纯。

1.2 前体化合物 6- Bu_3Sn -TZDM 的合成

以对溴苯胺为起始原料,根据文献^[11-12]合成了中间体 5-溴-邻氨基苯硫酚。然后依照文献^[7]合成 2-(4'-二甲氨基苯基)-6-三丁基锡基苯并噻唑 (6- Bu_3Sn -TZDM)。合成路线如下:



1.2.1 2-氨基-6-溴苯并噻唑合成 反应瓶中加入 5.2 g (30 mmol) 对溴苯胺、6.8 g (90 mmol) 硫氰酸铵和 60 mL 冰乙酸,室温搅拌下缓慢滴加含 4.8 g (30 mmol) 溴水的 20 mL 冰乙酸溶液,室温继续搅拌 30 min。然后加热回流 3 h,再室温搅拌反应 10 h。向反应液中加入 100 mL 水,加热至沸,趁热抽滤,热水洗涤沉淀 (30 mL $\times$ 2)。滤液用氨水调节 pH=8~9,置于冰箱冷却。抽滤,水洗沉淀 (50 mL $\times$ 2),用甲醇-苯重结晶,干燥后得淡黄色沉淀 6.3 g。产率 91.0%,熔点 206~210 $^{\circ}C$ 。

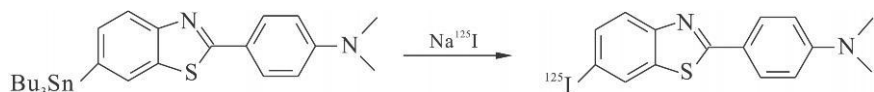
1.2.2 2-氨基-5-溴苯硫醇合成 反应瓶中加入 6.3 g (27.5 mmol) 2-氨基-6-溴苯并噻唑, 31.5 g

KOH, 80 mL 水,加热回流 8 h。反应液冷却至室温,加入 40 mL 水,过滤除去不溶物。搅拌下向滤液中加入 36% 乙酸至微酸性,置于冰箱冷却。抽滤,水洗沉淀 (50 mL $\times$ 3)。沉淀用乙酸乙酯-正己烷重结晶,得黄色沉淀 3.0 g。产率为 53.4%,熔点 111~114 $^{\circ}C$ 。

1.2.3 2-(4'-二甲氨基苯基)-6-溴苯并噻唑的合成 反应瓶中加入 1.1 g (5.4 mmol) 2-氨基-5-溴苯硫醇、0.8 g (5.4 mmol) 4-二甲氨基苯甲醛、10 mL 二甲基亚砜,加热回流 30 min。反应液冷却至室温,有大量黄色沉淀生成,加入 30 mL 水,搅拌。抽滤,水洗沉淀 (10 mL $\times$ 3)。沉淀经硅胶

柱层析分离,得淡黄色固体产物 1.2 g,产率 66.9%。熔点 214~216℃。

1.2.4 2-(4'-二甲氨基苯基)-6-三丁基锡基苯并噻唑合成 反应瓶中加入 0.6 g (1.8 mmol) 2-(4'-二甲氨基苯基)-6-溴苯并噻唑,20 mL 二氧六环、20 mL 甲苯、20 mL 三乙胺、2.0 mL 三丁基锡



称取 1 mg 6-Bu₃Sn-TZDM 前体,溶于 1 mL 乙醇中,取 50 μL,加入 10 μL 5% 的 H₂O₂,再加入 50 μL 1 mol/L HCl,最后加入 50 μL 0.1 mol/L NaOH 溶解的 Na¹²⁵I,室温反应 10 min,用 Na₂S₂O₄ 中止反应。用乙酸乙酯萃取 2 次,每次 1 mL,蒸发有机相,残留物用乙腈溶解,HPLC 分离 (C₄, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为 5 mmol/L pH=7.03 的 3-二甲基戊二酸溶液和乙腈混合物,体积比为 2:8,流速为 1 mL/min。

2 结果与讨论

2.1 6-Bu₃Sn-TZDM 的合成

在合成 2-氨基-6-溴苯并噻唑时,对文献[12]的方法进行了改进,在滴加溴水的冰乙酸溶液时,取消了冰浴冷却,控制滴加速度,反应温度可控制在室温;另外,为了使反应更加完全,增加了加热回流步骤,这样产率可达 91.0% (文献产率为 92%),产物熔点 206~210℃。

在合成 2-氨基-5-溴苯硫醇时,文献[11]采用无水乙醇进行重结晶,但在实验中发现产物在无水乙醇中氧化较快,故改用乙酸乙酯-正己烷溶液重结晶,可得黄色晶体产物,产率为 53.4%,熔点为 111~114℃ (文献产率为 45%,熔点 113~115℃)。

在根据文献[7]合成 2-(4'-二甲氨基苯基)-6-溴苯并噻唑时,采用乙酸乙酯重结晶 1 次不能得到纯度较高的产物,采用硅胶柱层析分离,可得纯的淡黄色固体产物,产率 66.9% (文献产率 68%)。在合成 2-(4'-二甲氨基苯基)-6-三丁基锡基苯并噻唑时,文献[7]由于合成量只有几十 mg,采用制备型薄层色谱分离纯化产物,本工作采用硅胶柱层析分离产物,合成量较大,产率高达 49% (文献产率 33.6%)。

2.2 6-Bu₃Sn-TZDM 结构表征

在前体化合物 6-Bu₃Sn-TZDM 的合成过程

和 200 mg 四-(三苯磷)钼,加热回流 12 h。旋转除去溶剂,残余物经硅胶柱层析分离,得黄色固体产物 0.48 g,产率 49.0%。熔点 56~62℃。

1.3 [¹²⁵I]TZDM 的制备

根据文献[13]方法,采用无载体 Na¹²⁵I 在酸性条件下标记制备 [¹²⁵I]TZDM,标记路线如下:

中,中间体仅通过红外光谱进行了表征,产物 6-Bu₃Sn-TZDM 通过红外光谱、¹H 核磁谱、质谱和元素分析进行了结构表征。

IR(KBr): 6-Bu₃Sn-TZDM 是叔胺,在 3 500~3 300 cm⁻¹ 处无 N-H 键的特征吸收峰,在 1 367.5 cm⁻¹ 处只有 ν_N 的特征吸收峰;1 606.7 cm⁻¹ 和 1 483.3 cm⁻¹ 是苯环骨架振动吸收峰;对二取代苯环和 1,2,4-三取代苯环上 δ_{C-H} 的特征吸收峰在 815.9 cm⁻¹ 处重叠;2 956.9 cm⁻¹ 是甲基 ν_{C-H} 的特征吸收峰;2 924.1 cm⁻¹ 和 2 850.8 cm⁻¹ 是亚甲基 ν_{C-H} 的特征吸收峰。

¹H NMR(500 MHz, acetone-d₆, δ): 7.942 48~8.000 92(m, 4H), 7.519 10~7.534 86(d, J=7.9 Hz, 1H), 6.766 73~6.784 47(d, J=8.9 Hz, 2H), 3.086 99(s, 6H), 1.558 00~1.589 52(penta, 6H), 1.350 88~1.408 17(hexa, 6H), 1.112 53~1.145 19(t, 6H), 0.906 07~0.935 19(t, 9H)。

MS(EI): 由于锡有 2 个丰度较大的同位素 ¹¹⁸Sn(24.22%), ¹²⁰Sn(32.59%), 以 C₂₇H₄₀N₂SSn 计,分子离子应有 m/z=542.29、544.29,在质谱图中可以找到 542.27(M⁺), 544.26(M⁺), 545.29(M⁺+1), 546.27(M⁺+2)。

元素分析(以 C₂₇H₄₀N₂SSn 计, w, %): 计算值 C, 59.68; H, 7.42; N, 5.16; 实验值 C, 56.56; H, 7.32; N, 4.46。

2.3 [¹²⁵I]TZDM 的标记与纯化

在制备配体竞争结合实验用的放射性配体时,标记反应必须采用无载体的 ¹²⁵I 进行标记,以便获得高放射化学纯度的 [¹²⁵I]TZDM。本工作采用三丁基锡预先定位,然后进行标记,标记反应可在室温下快速完成,标记率高。本实验的 [¹²⁵I]TZDM 标记率为 62.5%。[¹²⁵I]TZDM 的制备型 HPLC 放射性图谱示于图 1。从图 1 可知,虽然经乙酸乙酯萃取,粗产品中仍有少量的碘离

子($t_R = 6\text{ min}$)和碘分子($t_R = 12.5\text{ min}$)。经 HPLC 纯化后,由于许多产物被吸附在分离柱上,实际产率为 25%,纯化后的标记物在分析型 HPLC 谱图上仅有 1 个主峰,根据峰面积计算其放射化学纯度大于 97%(图 2)。

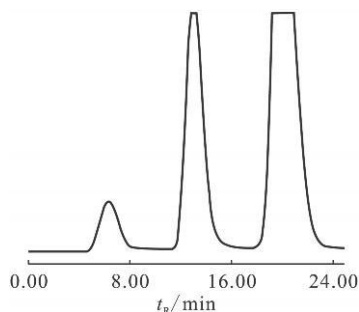


图 1 $[^{125}\text{I}]\text{TZDM}$ 制备型 HPLC 放射性图谱

Fig.1 HPLC chromatogram of the crude $[^{125}\text{I}]\text{TZDM}$

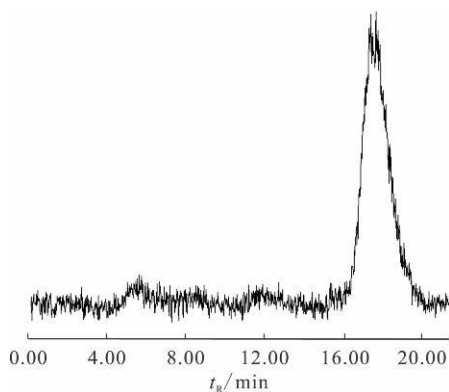


图 2 纯化后 ^{125}I -TZDM 分析型 HPLC 图谱

Fig.2 HPLC chromatogram of the purified $[^{125}\text{I}]\text{TZDM}$

3 结 论

本工作采用三丁基锡预先定位、再进行 ^{125}I 标记的方法,制备了 $[^{125}\text{I}]\text{TZDM}$,标记率为 62.5%。粗产物通过 HPLC 分离后,获得放射化学纯度大于 97%的 $[^{125}\text{I}]\text{TZDM}$,实际产率为 25%。 $[^{125}\text{I}]\text{TZDM}$ 的制备为今后研究 $\text{A}\beta$ 斑块显像剂的亲和性打下了坚实的基础。

参考文献:

- [1] 王武尚,张锦明,刘伯里. AD 脑 $\text{A}\beta$ 放射性显像剂研究进展[J]. 同位素, 2004, 17(17): 232-239.
- [2] Engler H, Blomqvist G, Bergström M, et al. First Human Study With a Benzothiazole Amyloid-Ima-

ging Agent in Alzheimer's Disease and Control Subjects[J]. Neurobiol Aging, 2002, 23(1): S429.

- [3] Patoine B. Advances in Alzheimer's Diagnostic Tools Expected to Speed Drug Trials [J]. Brain Work, 2002, 12(5): 1-2.
- [4] Schmitt F A, Davis D G, Wekstein D R, et al. "Preclinical" AD Revisited: Neuropathology of Cognitively Normal Older Adults[J]. Neurology, 2000, 55: 370-376.
- [5] Klunk W E, Engler H, Nordberg A, et al. Imaging Brain Amyloid in Alzheimer's Disease With Pittsburgh Compound-B [J]. Ann Neurol, 2004, 55: 306-319.
- [6] Kung M P, Zhuang Z P, Hou C, et al. Characterization of Radioiodinated Ligand Binding to Amyloid Beta Plaques[J]. J Mol Neurosci, 2003, 20: 249-254.
- [7] Zhuang Z P, Kung M P, Hou C, et al. Radioiodinated Styrylbenzenes and Thioflavins as Probes for Amyloid Aggregates [J]. J Med Chem, 2001, 44(12): 1905-1914.
- [8] Ono M, Wilson A, Nobregac J, et al. ^{11}C -Labeled Stilbene Derivatives as $\text{A}\beta$ -Aggregate-Specific PET Imaging Agents for Alzheimer's Disease [J]. Nucl Med Biol, 2003, 30: 565-571.
- [9] Zhuang Z P, Kung M P, Hou C, et al. IBOX (2-(4'-Dimethylaminophenyl)-6-Iodobenzoxazole): A Ligand for Imaging Amyloid Plaques in the Brain [J]. Nucl Med Biol, 2001, 28: 887-894.
- [10] Ono M, Kung M P, Hou C, et al. Benzofuran Derivatives as $\text{A}\beta$ -Aggregate-Specific Imaging Agents for Alzheimer's Disease [J]. Nucl Med Biol, 2002, 29: 633-642.
- [11] Mital R L, Jain S K. Synthesis of Some 5-Substituted 2-Aminobenzenethiols and Their Conversion Into Phenothiazines via Smiles Rearrangement [J]. J Chem Soc, C, 1969: 2148-2150.
- [12] Lin A J, Kasina S. Synthesis of 3-Substituted 7-(3,3-Dimethyl-1-Triazeno)-10-Methyl-Phenothiazines as Potential Antitumor Agents [J]. J Heterocyclic Chem, 1981, 18: 759-761.
- [13] Cai L, Chin F T, Pike V W, et al. Synthesis and Evaluation of Two ^{18}F -Labeled 6-Iodo-2-(4'-N, N-Dimethylamino) Phenylimidazopyridine Derivatives as Prospective Radioligands for β -Amyloid in Alzheimer's Disease [J]. J Med Chem, 2004, 47: 2208-2218.