

以 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体为靶点的 阿尔兹海默症显像剂研究进展

高航, 王淑霞, 张华北*

放射性药物教育部重点实验室, 北京师范大学 化学学院, 北京 100875

摘要: 阿尔兹海默症与心脏病、癌症、脑血管疾病并称为导致老年人死亡的四大杀手, 严重影响人们的健康生活及社会的正常发展。脑内 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体密度的改变是造成阿尔兹海默症的主要原因之一, 研制出以 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱 ($\alpha 7$ nAChR) 为靶点的高亲和力、高特异性及选择性的放射性显像剂对阿尔兹海默症的早期诊断和治疗具有重要意义。本文简要介绍了阿尔兹海默症发病机理及相关药物研究进展, 并介绍了以 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱为靶点的放射性药物。

关键词: 阿尔兹海默症; $\alpha 7$ nAChR; 发射断层; 显像剂

中图分类号: R914.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-9950(2020)03-0138-12

doi: 10.7538/hhx.2020.YX.2019091

Radiotracers Targeting $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptors in Alzheimer's Disease

GAO Hang, WANG Shu-xia, ZHANG Hua-bei*

Key Laboratory of Radiopharmaceuticals, Ministry of Education,
College of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

Abstract: Alzheimer's disease, heart disease, cancer and cerebrovascular disease are known as the four leading killers of the elderly, seriously affect people's health and become a heavy burden for the family and society. The change of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor ($\alpha 7$ nAChR) density in brain is one of the main causes of Alzheimer's disease. It is of great significance to develop a high affinity, specific and selective $\alpha 7$ nAChR radiotracer for the early diagnosis and treatment of Alzheimer's disease. In this paper we summarized the main causes of Alzheimer's disease and the development of therapeutic drugs. We also give a brief introduction of several radiotracers targeting $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors.

Key words: Alzheimer's disease; $\alpha 7$ nAChR; emission tomography; radiotracers

阿尔兹海默症 (Alzheimer's disease, AD), 又称老年痴呆症, 是一种中枢神经系统退行性疾

收稿日期: 2019-12-11; 修订日期: 2020-02-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21771022)

作者简介: 高航 (1990—), 男, 河北石家庄人, 博士研究生, 放射性药物设计与合成专业, E-mail: hgao@mail.bnu.edu.cn

* 通信联系人: 张华北 (1964—), 男, 北京人, 教授, 从事放射性药物研发工作, E-mail: hbzhang@bnu.edu.cn

病。AD 在临床初期表现主要有思维和记忆力下降,无法形成近期记忆并伴有认知障碍等。自 AD 发现以来,发病患者在全球范围内持续增长。据 2015 年统计,全球共有 4 700 多万人发病,预计至 2045 年,将有 1.31 亿人患病^[1-4]。在 2018 年发布的报告中显示,AD 患者在 2050 年将达到 1.52 亿左右^[5]。

1 阿尔兹海默症发病机制及相关靶点研究

除去遗传问题外,国内外学者发现了诸多 AD 潜在证据,形成的学说主要有 $A\beta$ 沉积假说、tau 蛋白过度磷酸化导致神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)、谷氨酸受体学说、乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)的缺乏、神经炎症导致小胶质细胞行为异常为主的氧化应激学说、炎症学说等、晚期糖化终产物(advanced glycation end products, AGEs)导致的脑细胞损伤等。

在 20 世纪 70 年代,病理学家通过对已经死亡的 AD 患者大脑解剖发现,AD 患者死亡后大脑内胆碱能神经系统普遍存在损伤,例如神经突触丢失、乙酰胆碱减少、胆碱乙酰基转移酶(choline acetyltransferase, ChAT)下调等。胆碱能学说来源于 AD 晚期患者,研究人员观察到 AD 晚期患者大脑各部胆碱乙酰基转移酶活性下降,乙酰胆碱减少,同时神经末梢对 ACh 摄取、释放也相应减少;胆碱神经轴突出现形态异常,进而 NFTs 出现^[6]。在此,本文就 $A\beta$ 假说、tau 蛋白学说及胆碱能学说做重点讨论。

1.1 $A\beta$ 假说

(1) β 淀粉样蛋白沉淀与 AD

AD 诸多标志性特征中, $A\beta$ 斑块一直被认为是诊断 AD 的标志物之一。该学说认为,正常生理环境下,在脑内的 $A\beta$ 处于动态平衡状态,过量积累的 $A\beta_{12}$ 会造成神经炎症反应,并可以引起突触损伤、神经细胞死亡等,最终导致 AD 的发生,该学说被称为“淀粉样蛋白假说”^[7-8]。

有多篇报道^[9-16]指出, $A\beta$ 蛋白会与 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱(nAChR)结合而破坏其功能。Wang 等^[9]于 2000 年首先发现,在散发性 AD 患者脑切片中, $A\beta_{1-42}$ 与 $\alpha 7$ nAChR 以共聚物形式存在。研究人员还发现, $A\beta_{12-28}$ 与同源亚基 $\alpha 1$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 8$ 、 $\beta 2$ nAChR 无明显结合,与 $\alpha 7$ nAChR 的结合属于特异性,并且已通过体外免疫沉淀和蛋白印迹予以证实。在随后的体外竞争结合试验中,研究

人员发现甲基牛扁碱(methyllycaconitine, MLA)和银环蛇毒素(α -bungarotoxin, α -bgt)可以作为竞争性配体与 $A\beta_{1-40}$ 蛋白进行竞争^[10]。Soderman 等^[11]在 2008 年通过对 APPSwe/PS1 Δ E9 转基因小鼠研究发现, $A\beta$ 蛋白与 $\alpha 7$ nAChR 有直接结合。而 Pettit 等^[12]通过对大鼠海马区脑切片研究表明,经过与 $A\beta_{1-42}$ 孵育后,突触后电流传导发生了降低,且 $\alpha 7$ nAChRs 与其同源受体开放概率下降。综合其他几项电生理学研究表明, $A\beta$ 蛋白会对 $\alpha 7$ nAChRs 造成破坏,导致受体抑制和神经毒性^[13-16]。

(2) 针对 β 淀粉样蛋白的药物研发情况

首当其冲的是抑制 $A\beta$ 蛋白合成的药物,即 β -分泌酶(β -site APP-cleaving enzyme, BACE1)抑制剂。在早期 BACE 抑制剂研制中,由于生物利用度低、血脑屏障透过性差、肝肾毒性等原因,并没有适宜成药的化合物。近来,由阿斯利康和礼来制药公司联合开发的口服 BACE1 抑制剂 Lannaecostat(AZD3293)已完成 I 期临床试验,正在进行临床 II 期研究^[17-18]。

γ -分泌酶抑制剂(γ -secretase inhibitor)是攻克 AD 的另一种尝试。类似于 β -分泌酶抑制剂,早期的尝试均以不良反应告终。第二代作用于分泌酶的药物为 γ -分泌酶调节剂(γ -secretase modulators, GSM),其机理为改变酶活性而非抑制。在经历诸多失败后,卫材集团研发了 E2012 及改良化合物 E2212, E2212 已完成 I 期临床。临床数据表明 E2212 安全性较好,受试者体内 $A\beta$ 斑块有所减少^[19]。

针对 $A\beta$ 蛋白的还有 $A\beta$ 聚集抑制剂、 $A\beta$ 抗体等。近几年靶向于 $A\beta$ 蛋白的单克隆抗体成为研发重点,例如用于免疫疗法清除斑块的 Affitope AD02、ACI-24 和 UB-311 等^[20],以及代号为 gantenerumab、crenezumab、ponezumab 和 GSK933776A 的单克隆抗体。在免疫疗法和单克隆抗体以及疫苗中,尚未筛选到具有满意效果的化合物或抗体。

2014 年,包括杨森(Janssen-Cilag)和辉瑞(Pfizer)在内的多家研究机构联合公布了 Bapineuzumab 的 III 期临床结果,结果显示, Bapineuzumab 并没有改善阿尔兹海默病患者的临床预后,部分患者甚至出现了脑水肿等不良反应^[21]。同样,2014 年和 2018 年利来(Lilly)公司公布了两项 Solanezumab 的临床试验失败结果^[22-23]。2018 年 Solanezumab 的失败被认为是 $A\beta$ 蛋白学

说的重大打击。2019年3月,渤健(Biogen)公司宣布停止代号为 aducanumab 的单克隆抗体Ⅲ期临床研究。对1748名患者经过18个月的统计学研究表明,并没有达到预期治疗指标^[24]。在名为 EMERGE 和 ENGAGE 的临床研究终止后,2019年10月渤健公司最新公布的分析结果表明,对更大的数据组统计表明,高剂量组在给药78周时临床痴呆评分(CDR-SB)较基线有了下降,但也有分析认为是由于安慰剂组下降导致的,进一步研究结果有待发表^[25]。

1.2 tau 蛋白学说

(1) tau 蛋白学说及相关治疗手段

tau 蛋白是一种微管相关蛋白,在体内高度可溶。tau 蛋白主要分布于轴突中,并能与微管相结合,稳定微管的结构。在 AD 患者脑中,tau 蛋白异常磷酸化,使之失去与微管的结合能力,形成对螺旋丝状结构(paired helical filament, PHF)并破坏了轴索流^[26]。进一步研究表明,蛋白磷酸酶 2A(protein phosphatase 2A, PP2A)以及糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK-3 β)可以直接或间接调节 tau 蛋白磷酸化的程度,因此针对 tau 蛋白的药物主要有以下几个方向:抑制 tau 蛋白过度磷酸化、抑制 tau 蛋白聚集、增强 tau 蛋白清除以及微管稳定剂^[27-28]。

(2) 针对 tau 蛋白的新药研发情况

目前,大多数针对 tau 蛋白的抗 AD 药物仍处于临床前研究阶段,只有少数已经进入临床试验。对于调节 tau 蛋白磷酸化的药物方面,以 GSK-3 β 抑制剂为靶标的药物是当下研究热点。代号为 Tideglusib(NP-031112)是目前唯一进入临床Ⅱ期、用于治疗 AD 和进行性核上性麻痹的化合物。实验结果表明, NP-031112 可以减少 tau 蛋白过度磷酸化,并能轻微缓解 AD 患者脑容量的减少^[29-32]。

在针对已经解离的内源 tau 蛋白方面,亚甲基蓝(methylene blue, MT)是第一代抑制 tau 聚集的药物,并在随后的临床Ⅱ期试验中表现出了对受试者认知功能的改善,但频发的副作用和不良反应阻碍了其进一步发展^[33]。随后研究人员开发了第二代 tau 蛋白聚集抑制剂 TRx0237(LMTM)mesylate。相比第一代抑制剂, LMTM 有更好的药代动力学性质,但 2016 年完成的Ⅲ期临床试验数据表明 LMTM 在轻至中度 AD 患者群体的药效有待商榷^[34]。在清除脑内 tau 蛋白

方面,研究人员试图通过主动免疫疗法促进 AD 患者自身清除体内过度磷酸化的 tau 蛋白。AADvac1 和 ACI-35 两种活性肽疫苗已经相继进入了Ⅰ期临床^[35-36]。

微管稳定剂是研究人员对解决 AD 患者体内 tau 蛋白解离的另一种尝试。研究人员发现紫杉醇可以防止微管破坏,但在随后进行的体内实验中发现其毒副作用明显,不能用于临床研究。通过对紫杉醇进行结构修饰,研究人员得到了具有良好血脑屏障透过能力的紫杉醇衍生物 TPI287,并已进入Ⅰ期临床^[37]。

1.3 胆碱能学说

(1) $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体与阿尔兹海默症

乙酰胆碱作为一种兴奋性神经递质,广泛分布于中枢及外周神经系统。乙酰胆碱受体分为神经元型($\alpha 2-\alpha 10$ 和 $\beta 2-\beta 4$)以及肌肉型($\alpha 1, \beta 1, \gamma, \delta$ 和 ϵ)。在人脑中,含量最多的为 $\alpha 4\beta 2$ 以及 $\alpha 7$ 受体。其中, $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体属于配体门控离子通道受体,由 5 个 $\alpha 7$ 单体组装而成。 $\alpha 7$ nAChR 功能、分布和数量与多种退行性神经疾病密切相关,有望成为早期诊断和评估 AD 等疾病治疗效果的热门靶点^[38]。

据研究表明,烟碱型乙酰胆碱与诸多神经异常相关,例如阿尔兹海默症、精神失常等^[39-44]。进一步研究表明,激活 $\alpha 7$ nAChR 可以有效改善记忆认知功能,而疾病造成的 $\alpha 7$ nAChR 损伤或丢失,则会导致记忆认知障碍,具体表现为 AD、路易体痴呆、唐氏综合症或类似症状^[45]。Blozovski 等^[46]通过用烟碱型乙酰胆碱受体阻断剂四甲双环庚胺分为 5、50 μg 以及 100 μg 三个剂量组对健康大鼠研究发现,当 nAChR 阻断后,大鼠学习认知能力有了明显下降,且具有剂量依赖以及年龄依赖效应。基因组学和动物实验的研究证明了上述观点。在用 $\alpha 7$ nAChR 拮抗剂 MLA 阻断大鼠基底外侧杏仁核、腹侧海马或海马背侧脑区域的 $\alpha 7$ 受体时,大鼠的工作、觅食等认知功能或记忆受到了影响^[47-49]。而在另一项动物实验中,用烟碱特异性激动 $\alpha 7$ 受体,灵长类动物学习能力和记忆能力有了显著提高^[50]。

阿尔茨海默症的病因之一是胆碱能系统的损伤或缺失,基因敲除实验结果表明, $\alpha 7$ nAChR 亚型缺失的模型小鼠体内突触前胆碱能神经系统表现出不完整性,影响了小鼠的记忆、学习等认知功

能。此外,研究者还发现,皮层和海马区淀粉样前体蛋白经过酶的分解作用生成的 $A\beta$ 小分子肽可与 $\alpha 7$ nAChR 相互作用形成 $A\beta$ - $\alpha 7$ nAChR 蛋白复合物^[51],该蛋白复合物聚集在脑中严重影响了 $\alpha 7$ nAChR 的功能,使细胞内胆碱能神经递质的释放减少,阻碍细胞间信号的传递,从而导致细胞凋亡,使认知功能发挥失常。

Davies 等^[52] 通过用 [¹²⁵I] α -bgt 对 AD 患者人脑研究发现,在 AD 患者颞中回区域中, $\alpha 7$ 受体密度相比正常人有了显著减少。研究人员通过用不同浓度的 [¹²⁵I] α -bgt 进行结合实验发现,相比正常人,在早老性痴呆和老年性痴呆患者前额叶皮质中,结合位点下降了 22.3%。Sugaya 等^[53] 通过用 [¹²⁵I] κ -bgt、[³H]nicotine 以及 [¹²⁵I] α -bgt 合并研究发现,在 AD 患者脑额皮质中,烟碱型乙酰胆碱最大结合量有了显著下降。Hellstrom-Lindahl 等^[54] 研究发现,在 AD 患者脑中,同源 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 受体基因表达与常人无异,而 $\alpha 7$ mRNA 水平在海马区和淋巴细胞中有了明显提高。Guan 等^[55] 通过更细致的免疫印迹实验研究发现,在 AD 患者死亡后脑组织中, $\alpha 7$ 蛋白水平对比正常死亡人群有了明显降低。研究人员将 8 名 AD 患者死亡后脑组织分别用 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 7$ 、 $\beta 2$ 抗体进行检测,并与同年龄死亡人群对照组进行对比。结果表明,在 AD 患者海马区, $\alpha 7$ 蛋白水平降低了 36%,而 $\beta 2$ 亚型蛋白无明显降低,与 Hellstrom-Lindahl^[54] 所报道的结果一致。

(2) $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体相关药物研发进展

最初研究主要针对于胆碱酯酶抑制剂 (AChE inhibitors, AChEI),随后开发的相关治疗药物主要分为乙酰胆碱 M/N 受体激动剂以及 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体激动剂。首个美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的抗 AD 药物,为作用于胆碱酯酶抑制剂他克林^[56]。由于他克林半衰期较短,并且肝毒性严重,很快退出了市场。多奈哌齐被批准作为他克林的后继药物,拥有更好的安全性,患者耐受性良好^[57]。多奈哌齐自上市至今,已成为使用最广泛的抗 AD 药物。其他 AChEI 类药物还包括利凡斯的明和加兰他敏等^[58]。最新研发的 AChEI 类药物为加兰托斯制药公司 (Galantos Pharma) 研发的加兰他敏前药 Memogain (Gln 1062)^[59]。相比加兰他敏,Memogain 生物利用度提高了 15 倍以上,等剂量效力增强了

3~5 倍并减少了副作用。Memogain 已被批准进行临床 I 期试验。这类药物是通过抑制酯酶活性,控制乙酰胆碱受体底物烟碱的水解速度达到治疗作用。

在作用于 mAChR 靶点方面,由于 mAChR 乙酰胆碱结合口袋高度保守,并且分化成为 M1—M5 不同亚型,在配体设计方面存在一定困难。多年来,只有少数几个 M1 亚型变构调节剂例如 VU0029767、VU0090157 以及苄基喹诺酮羧酸 (BQCA) 具有潜在开发前景^[60-62]。除传统胆碱酯酶抑制剂外,研究人员将重点放在了 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体激动剂合成及开发。研究发现,特异性激动 $\alpha 7$ nAChRs 可以促进许多神经递质的释放,并且与 AChEI 不互相影响。几种具有潜在治疗 AD 疾病的激动剂已完成临床 II 期研究。

烟碱型乙酰胆碱配体的最初设计来源于假木贼碱衍生物 GTS-21,但其因为选择性较差,已被淘汰^[63]。最新研发的 Encenicline (EVP-6124) 是一种选择性 $\alpha 7$ nAChRs 部分激动剂,处于纳摩尔浓度时就有良好的激动效果,并在轻度至中度 AD 受试者中观察到了一定效果 (图 1)^[64]。虽然该药用于治疗精神分裂症所致认知功能减退的适应症于 2015 年 6 月获 FDA 的快速通道认证,但当年 9 月暂缓了该药相应的临床试验 (NCT01969136 与 NCT01969123),该药物的失败并不是其对阿尔兹海默症的治疗效果达不到预期,而是其在两项 III 期临床中出现严重的消化道不良反应。

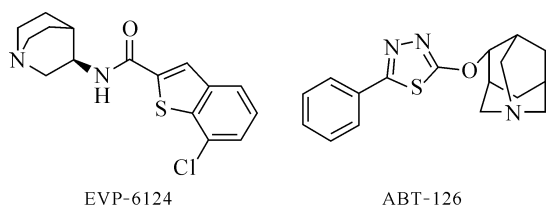


图 1 EVP-6124^[64] 和 ABT-126^[65] 的结构

Fig. 1 Chemical structure of EVP-6124^[64] and ABT-126^[65]

另一个选择性激动剂是雅培公司开发的 ABT-126 (图 1),在单剂量和多剂量研究评估中,ABT-126 表现出了良好的安全性和药代动力学性质,II 期临床研究结果表明,ABT-126 可以改善轻度至中度 AD 患者的记忆、认知功能^[65]。针对 $\alpha 7$ nAChR 靶点的潜在药物还包括作用于变构位点的正负向调节剂 (positive/negative allosteric

modulators, PAMs/NAMs), 例如 NS-1738 以及 PNU120596 等, 并表现出了潜在的药效^[66-67]。 $\alpha 7$ nAChR 激动剂被认为是最有可能改善 AD 症状的靶点之一, 并已经成为研究热点。

2 用于 $\alpha 7$ nAChR 显像的放射性示踪剂应满足的基本条件

PET/SPECT 技术相比于其他临床显像手段能更好地定量研究人脑中的 $\alpha 7$ nAChR, 然而, 自 1975 年 PET 技术发明以来, 由于缺乏合适的 PET 示踪剂, $\alpha 7$ nAChR 作为主要的脑受体之一并没有被成功显像。

$\alpha 7$ nAChR 显像剂属于体内定量计算受体密度、含量的放射性示踪剂。相比 β 淀粉样蛋白显像剂来说, 假阳性率较低。在 2008 年, Hashimoto 等^[68]将^[11C]CHIBA-1001 应用于精神分裂的猴脑显像中, 并计算了 $\alpha 7$ 受体占有率, 以模拟神经退行性疾病对灵长类动物的影响。结果表明, 猴大脑额叶皮层的 $\alpha 7$ 受体与^[11C]CHIBA-1001 的结合明显下降。2013 年, 研究人员报道了亲和力更高、选择性更好的^[18F]-ASEM, 并进行了一系列临床试验^[69]。2018 年 Wong 等^[70]用^[18F]-ASEM 研究后发现, 在退行性神经疾病患者的扣带回皮质、额叶皮质和海马区, $\alpha 7$ nAChR 的血浆外药物分布的生理容量 (V_T) 中位数明显低于健康人群。2018 年 Lorena 等^[71]通过 $\alpha 7$ 体内显像结合 MRI 研究发现, $\alpha 7$ nAChR 在神经炎症中起关键作用, 可能是退行性神经疾病的病源之一^[71]。据此, 研发高亲和力、高选择性的 $\alpha 7$ nAChR 示踪剂有利于 AD 更为精准的早期诊断, 以及以 AD 为主的退行性神经疾病发病机制研究和药物开发。

原则上, 一个适于 PET 显像的 $\alpha 7$ nAChR 放射性配体应该和其他脑受体 PET 显像剂具有相似的特点: (1) 具有较高的体内特异性结合和较低的非特异性结合; (2) 相对于其它 nAChR 受体亚型具有较高的选择性; (3) 具有良好的血脑屏障穿透力和可逆的脑动力学^[72-73]; (4) 选取半衰期适宜的同位素进行放射性标记; (5) 较低的辐射负荷和较低的毒性。所有这些特点中, 最重要的是放射性配体的特异性和选择性^[74]。特异性的脑受体 PET 示踪剂应该遵循 Eckelman 标准, 即 $B_{\max}/K_d \geq 10$ (其中, B_{\max} 为结合位点的最大结合量, K_d 为放射性配体的结合亲和力常数, 即平衡解离常数)^[75-76]。在灵长类动物脑中,

$\alpha 7$ nAChR 结合位点的密度是非常低的 ($B_{\max} = 5 \sim 15$ fmol/mg protein 或 $1.5 \sim 12$ fmol/mg tissue)^[77], 因此, 一个适宜的 $\alpha 7$ nAChR PET 放射性配体的结合亲和力必须在纳摩尔范围内。

3 $\alpha 7$ nAChR 显像剂的研究进展

2001—2005 年, Dolle^[78] 和 Pomper 等^[79] 通过对奎宁环衍生物进行放射性标记 (图 2), 试图将其作为潜在的 $\alpha 7$ nAChR 显像剂, 然而, 这些示踪剂因为在动物体内没有显示出足够的信噪比而最终无法用于人体显像。虽然他们的实验最终未能取得重要突破, 但却引起了更多的研究者对 $\alpha 7$ nAChR 体内显像剂的研究兴趣。

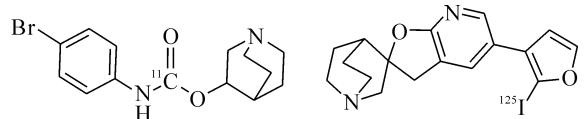


图 2 $\alpha 7$ nAChR 成像的显像剂结构

Fig. 2 Chemical structure of $\alpha 7$ nAChR radiotracers

2005—2010 年, 大约有 20 多种^{18F}或^{11C}标记的 $\alpha 7$ nAChR 放射性 PET 示踪剂被研制出来, 但却未能成功研发出一个足以展现体内特异性结合的 $\alpha 7$ nAChR 放射性配体。^[11C]CHIBA-1001 是第一个用于人体 PET 显像的 $\alpha 7$ nAChR 显像剂, 在单一人体 PET 扫描中, 该配体显示了较低的靶与非靶比 (< 1.3), 虽然阻断实验结果表明该配体具有一定的特异性结合能力, 但该特异性结合程度对定量研究受体密度依然不足^[80]。研究者认为, ^[11C]CHIBA-1001 在人脑中较低的特异性结合与其弱的体外结合亲和力及不明确的脑区域分布紧密相关。因此, 仍要继续研究以研制出一个更好的 PET 放射性配体用于 $\alpha 7$ nAChR 受体显像。最近报道的一些 $\alpha 7$ nAChR PET 示踪剂, 例如^[18F]AZ11637326^[81-82]、^[11C]NS14492^[83]和^[18F]NS10743^[84-85]等, 在动物体内都表现出了一定的特异性结合, 但是它们对于人体 PET 显像却不能满足, 主要的原因是这些配体的亲和力较低。在 SPECT 示踪剂中, 只报道了为数不多的^{125I}标记的示踪剂, 尚未报道应用于临床研究的放射性示踪剂。

2013 年, 由 Abbott 实验室和约翰霍普金斯大学合成的 PET 示踪剂^[11C]A752274 显示了很高的结合亲和力 ($K_i = 0.092$ nmol/L), 然而, 该

放射性配体是一个极性化合物,其脂溶性太小 ($\lg D_{7.4} = -2.7$),导致其脑摄取太低而无法用于脑内 PET 显像^[86]。同年,Gao^[69]、Horti 等^[87]发现了高亲和性和选择性的二苯并噻吩类化合物并对其进行了放射性标记,分别为 $[^{18}\text{F}]7\text{a}$ 和 $[^{18}\text{F}]7\text{c}$ ($K_{i,7\text{a}} = 0.4 \text{ nmol/L}$, $K_{i,7\text{c}} = 1.3 \text{ nmol/L}$) (图 3),在生物分布实验当中, $[^{18}\text{F}]7\text{a}$ 和 $[^{18}\text{F}]7\text{c}$ 都表现出剂量依赖型阻断性能和良好的脑动力学特性。基于 $[^{18}\text{F}]7\text{a}$ 的优良性质,该小组在 2014 年将其正式命名为 $[^{18}\text{F}]$ -ASEM,并研究了它在 DISC1 小鼠和狒狒脑中的活体显像性质。狒狒脑中的显像实验也充分说明了 $[^{18}\text{F}]$ -ASEM 在各区域的高摄取,这也与之前报道^[54]的人类的情况相一致。因此 $[^{18}\text{F}]$ -ASEM 有希望成为量化人脑内 $\alpha 7$ nAChRs 的 PET 示踪剂。

北京师范大学放射性药物教育部重点实验室

张华北课题组长期从事 $\alpha 7$ nAChRs 的研究,并先后发表了关于此靶点的多篇文章。该课题组在 2016—2017 年^[88-89]报道了高亲和性单光子 ^{125}I 标记的 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱配体 $[^{125}\text{I}]$ CAIPE、 $[^{125}\text{I}]$ IBT 及 $[^{125}\text{I}]$ IPPU (图 4)。 $[^{125}\text{I}]$ IPPU 体内生物分布实验显示出了很强的初始摄取,5 min 时在脑中的放射性摄取值达到了 $(7.71 \pm 0.47) \% \text{ID/g}$,但是该化合物在小鼠体内的滞留性相对较差。 $[^{125}\text{I}]$ IBT 生物分布结果表现出了很强的初始摄取,在 15 min 时脑中的放射性摄取值为 $(8.36 \pm 0.57) \% \text{ID/g}$,并达到了峰值;到 30 min 时,该摄取值仍然高于 $7 \% \text{ID/g}$ ($7.32 \pm 0.59) \% \text{ID/g}$)。将 $[^{125}\text{I}]$ IBT 与已在人体做实验的药物 $[^{11}\text{C}]$ CHIBA-1001 相比,它也体现出了相对优越的摄取特性。因此放射性配体 $[^{125}\text{I}]$ IBT 有希望成为潜在的 $\alpha 7$ nAChRs 放射性配体。

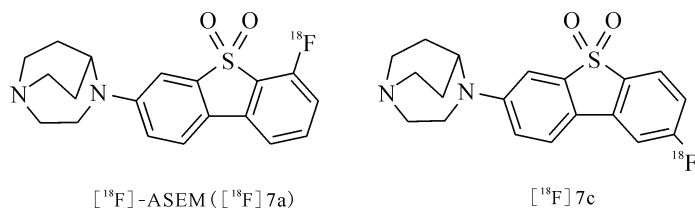


图 3 示踪剂 $[^{18}\text{F}]$ -ASEM 和 $[^{18}\text{F}]7\text{c}$ 的结构^[69,87]

Fig. 3 Chemical structure of $[^{18}\text{F}]$ -ASEM and $[^{18}\text{F}]7\text{c}$ ^[69,87]

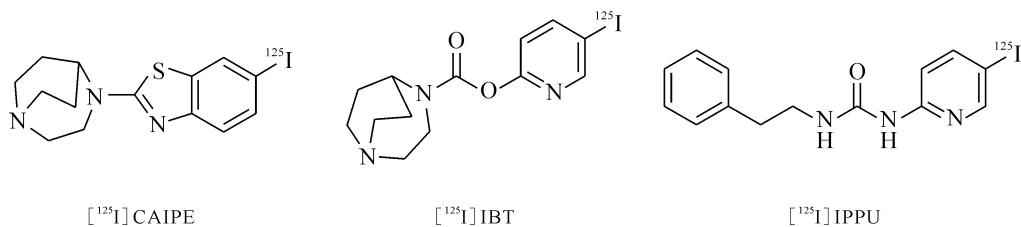


图 4 示踪剂 $[^{125}\text{I}]$ CAIPE、 $[^{125}\text{I}]$ IBT 及 $[^{125}\text{I}]$ IPPU 的结构^[88-89]

Fig. 4 Chemical structure of $[^{125}\text{I}]$ CAIPE, $[^{125}\text{I}]$ IBT and $[^{125}\text{I}]$ IPPU^[88-89]

2018—2019 年,张华北等又报道了一系列对 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体高亲和性和选择性的茚酮类衍生物配体^[90-91]。几种配体都表现出了极高的受体亲和性,其中 YLN 亲和性高达 0.0069 nmol/L ,为现有配体中活性最高的配体。放射性配体 $[^{18}\text{F}]$ YLF 具有合适的放射化学性质,并具有较强的 $\alpha 7$ nAChRs 亲和性 ($K_i = (2.98 \pm 1.41) \text{ nmol/L}$),适合进行深入研究。

在对 $[^{18}\text{F}]$ YLF、 $[^{125}\text{I}]$ YJI、 $[^{125}\text{I}]$ YLI (结构示于图 5) 标记后进行了体外稳定性实验,几种配体

在生理盐水和胎牛血清中都表现出很好的稳定性。生物分布实验说明, $[^{18}\text{F}]$ YLF、 $[^{125}\text{I}]$ YJI、 $[^{125}\text{I}]$ YLI 在小鼠脑内具有非常高的初始脑摄取和适宜的脑清除速率,这表明了此三个化合物具有适宜的脑内动力学性质;该结果与目前已报道的进入临床试验的 $[^{18}\text{F}]$ -ASEM (其最高的脑摄取值出现在给药 5 min 后,为 $7.5 \% \text{ID/g}$) 相比,已表现出明显的优势^[69]。另外,在血液中的滞留很低,表现出很高的脑/血比值,脑区分布实验结果表明,该放射性配体在 $\alpha 7$ nAChR 最为富集的皮肤

层、纹状体和海马区有较高的摄取,并在给药30 min后达到峰值。该区域分布特点与文献[40]中报道的 $\alpha 7$ nAChR在体内外的分布情况一致。脑内抑制实验证明, $[^{18}\text{F}]\text{YLF}$ 、 $[^{125}\text{I}]\text{YJI}$ 、 $[^{125}\text{I}]\text{YLI}$ 对于 $\alpha 4\beta 2$ nAChR和5-羟色胺受体几乎没有结合,验证了此三个放射性配体对于 $\alpha 7$ nAChR的选择性。

随后研究成员进行了大鼠PET/CT及

SEPCT/CT显像研究,结果示于图6、7^[90-91]。由图6、7可知,三个放射性配体均具有较高的脑摄取,并具有适宜的脑部滞留,适于进行PET/SPECT显像研究。另外,研究成员还对YLF标准品进行了半致死剂量毒性实验,结果表明,其半致死剂量(LD₅₀)值为53.70 mg/kg,该数量级别远远超出了临床上做一次PET显像所注射的剂

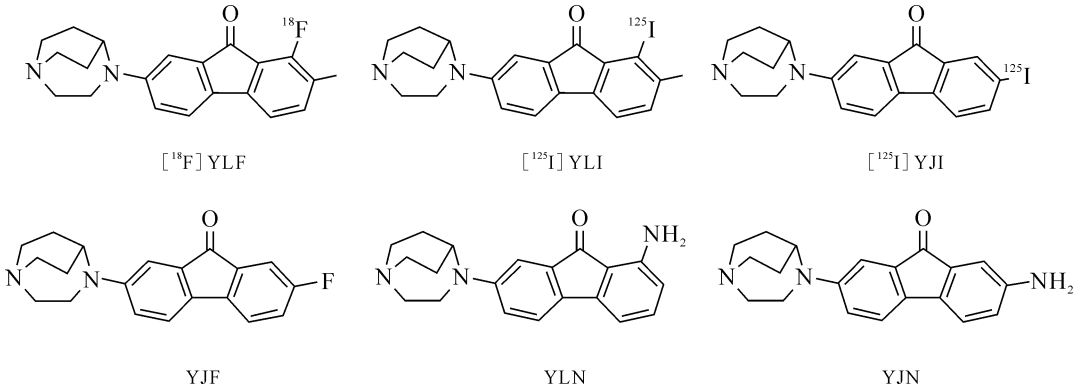
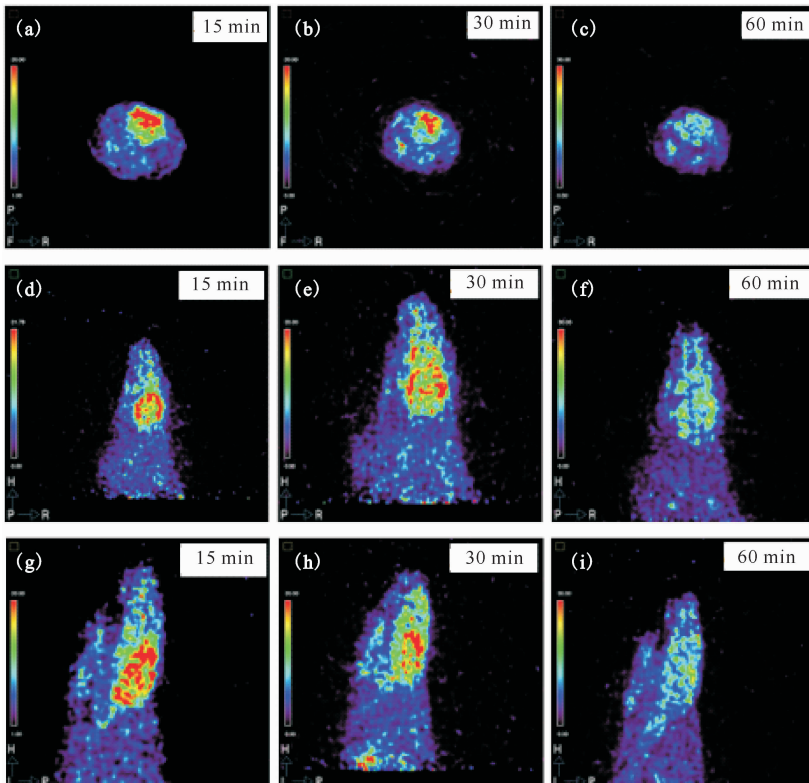


图5 示踪剂 $[^{18}\text{F}]\text{YLF}$ 、 $[^{125}\text{I}]\text{YLI}$ 、 $[^{125}\text{I}]\text{YJI}$ 及配体YJF、YLN、YJN的分子结构式

Fig. 5 Structure of $[^{18}\text{F}]\text{YLF}$, $[^{125}\text{I}]\text{YLI}$, $[^{125}\text{I}]\text{YJI}$, YJF, YLN and YJN

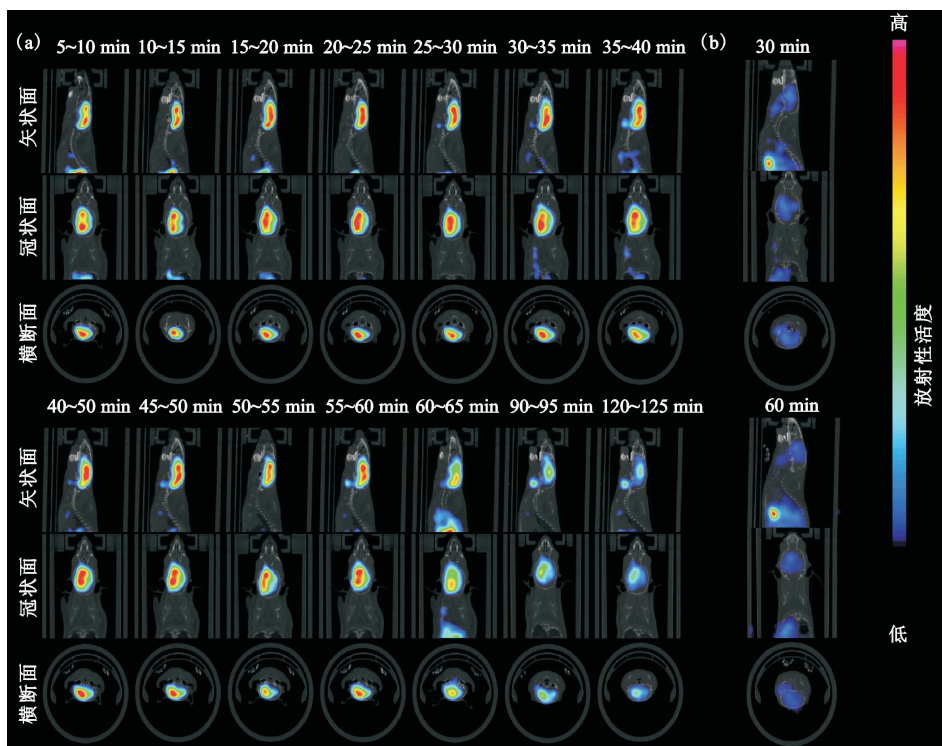


红色区域为 $\alpha 7$ nAChR

(a)、(b)、(c)——横断面,(d)、(e)、(f)——冠状面,(g)、(h)、(i)——矢状面

图6 $[^{18}\text{F}]\text{YLF}$ 雌性CD-1大鼠PET显像图

Fig. 6 PET of $[^{18}\text{F}]\text{YLF}$ in CD-1 rat



(a)——正常组,(b)——抑制组

红色区域为 $\alpha 7$ nAChR图 7 $[^{125}\text{I}]$ YLI 在昆明小鼠体内 SPECT/CT 显像图Fig. 7 SPECT/CT of $[^{125}\text{I}]$ YLI in Kunming mice

量,使用安全。这些优良的性质均表明 $[^{18}\text{F}]$ YLF 可以作为潜在的 $\alpha 7$ nAChR PET 显像剂。而 YJI、YLI 可以标记 ^{123}I 或 ^{124}I 后作为 SPECT 或 PET 显像剂进行深入研究。

鉴于 $[^{18}\text{F}]$ YLF 和 $[^{125}\text{I}]$ YLI 的优良体内性质,该课题组成员随后对其进行了质量控制、药物代谢和急性毒性等临床前研究,并得到了部分结果。急性毒性实验表明, $[^{18}\text{F}]$ YLF 和 $[^{125}\text{I}]$ YLI 毒性较小,按正常使用剂量放大 1 000 倍时,仍无明显毒性。综合来看, $[^{18}\text{F}]$ YLF 和 $[^{123/124}\text{I}]$ YLI 有望成为临床使用的新型 AD 诊断剂。

4 结 语

阿尔兹海默症与心脏病、癌症、脑血管疾病并称为导致老年人死亡的四大杀手。目前,中国社会人口老龄化程度正在逐渐加剧,阿尔兹海默症的患病率也随之不断升高,2017 年 4 月 7 日,国家卫生健康委员会发布研究结果显示,国内阿尔兹海默症的发病率在 65 岁及以上人群中的比例已达到 6% 左右,到 2040 年中国的患病人数预计将达到 2 200 万,几乎是其他发达国家患病人数

总和。阿尔兹海默症患者人数的增加,为我国经济社会的可持续发展造成了严重影响,不仅要投入大量的资金用于患者的养老和医疗,而且需要耗费较多的人力和设施用于患者的照料。因此,研发针对阿尔兹海默症诊断和治疗的药物迫在眉睫。

随着放射性诊断技术的发展,放射性配体的应用为定量研究患者脑内 $\alpha 7$ nAChRs 受体密度提供了良好的机会。虽然,国外已经报道了 2 个可供临床研究的 $\alpha 7$ nAChR PET 显像剂,但至今并没有已获批的放射性药物。因此,研制出亲和性好、特异性强、选择性高、脑摄取和代谢速率适中,具有临床应用价值的 $\alpha 7$ nAChR 放射性示踪剂具有重要的应用前景。

参考文献:

- [1] Winblad B, Amouyel P, Andrieu S, et al. Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society[J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(5): 455-532.
- [2] Brookmeyer R, Evans D A, Hebert L, et al. National estimates of the prevalence of Alzheimer's disease in the United States[J]. *Alzheimers De-*

- ment, 2011, 7(1): 61-73.
- [3] Christina P, Paola B, Ricardo A, et al. Alzheimer's disease international[R]. World Alzheimer's Report 2018. London, 2018.
- [4] Ferri C P, Prince M, Brayne C, et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study[J]. *Lancet*, 2005, 366(9503): 2112-2117.
- [5] 世界卫生组织. 关于老龄化与健康的全球报告(中文版)[C]. 日内瓦: WHS Press. 2016.
- [6] Braida D, Ponzoni L, Martucci R, et al. Role of neuronal nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) on learning and memory in zebrafish[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2014, 231(9): 1975-1985.
- [7] Toiber D, Berson A, Greenberg D, et al. N-acetylcholinesterase-induced apoptosis in Alzheimer's disease[J]. *PLoS One*, 2008, 3(9): e3108.
- [8] Loera-Valencia R, Cedazo-Minguez A, Kenigsberg P A, et al. Current and emerging avenues for Alzheimer's disease drug targets[J]. *J Intern Med*, 2019, 286(4): 398-437.
- [9] Wang H Y, Lee D H, D'Andrea M R, et al. Beta-amyloid(1-42) binds to alpha7 nicotinic acetylcholine receptor with high affinity: implications for Alzheimer's disease pathology[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(8): 5626-5632.
- [10] Wang H Y, Lee D H, Davis C B, et al. Amyloid peptide A β_{1-42} binds selectively and with picomolar affinity to alpha7 nicotinic acetylcholine receptors[J]. *J Neurochem*, 2000, 75(3): 1155-1161.
- [11] Soderman A, Thomsen M S, Hansen H H, et al. The nicotinic alpha7 acetylcholine receptor agonist ssr180711 is unable to activate limbic neurons in mice overexpressing human amyloid-beta1-42 [J]. *Brain Res*, 2008, 1227: 240-247.
- [12] Pettit D L, Shao Z, Yakel J L. Beta-amyloid(1-42) peptide directly modulates nicotinic receptors in the rat hippocampal slice[J]. *J Neuro Sci*, 2001, 21(1): C120.
- [13] Lamb P W, Melton M A, Yakel J L. Inhibition of neuronal nicotinic acetylcholine receptor channels expressed in xenopus oocytes by beta-amyloid1-42 peptide[J]. *J Mol Neurosci*, 2005, 27(1): 13-21.
- [14] Liu Q, Huang Y, Shen J, et al. Functional alpha7 beta2 nicotinic acetylcholine receptors expressed in hippocampal interneurons exhibit high sensitivity to pathological level of amyloid beta peptides[J]. *BMC Neuro Sci*, 2012, 13: 155.
- [15] Liu Q, Huang Y, Xue F, et al. A novel nicotinic acetylcholine receptor subtype in basal forebrain cholinergic neurons with high sensitivity to amyloid peptides[J]. *J Neuro Sci*, 2009, 29(4): 918-929.
- [16] Wu J, Kuo Y P, George A A, et al. Beta-amyloid directly inhibits human alpha4 beta2-nicotinic acetylcholine receptors heterologously expressed in human SH-EP1 cells[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(36): 37842-37851.
- [17] Albala B, Kaplow J M, Lai R, et al. CSF amyloid lowering in human volunteers after 14 days' oral administration of the novel BACE1 inhibitor E2609[J]. *Alzheimer's & Dementia*, 2012, 8(4): S743.
- [18] Lai R, Albala B, Kaplow J M, et al. First-in-human study of E2609, a novel BACE1 inhibitor, demonstrates prolonged reductions in plasma beta-amyloid levels after single dosing[J]. *Alzheimer's & Dementia*, 2012, 8(4): P96.
- [19] Yu Y, Logovinsky V, Schuck E, et al. Safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of the novel gamma-secretase modulator, E2212, in healthy human subjects[J]. *J Clin Pharmacol*, 2014, 54(5): 528-536.
- [20] Schneeberger A, Mandler M, Ottawa O, et al. Development of AFFITOPE vaccines for Alzheimer's disease(AD): from concept to clinical testing[J]. *J Nutr Health Aging*, 2009, 13(3): 264-267.
- [21] Salloway S, Sperling R, Fox N C, et al. Two phase 3 trials of bapineuzumab in mild-to-moderate Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(4): 322-333.
- [22] Doody R S, Thomas R G, Farlow M, et al. Phase 3 trials of solanezumab for mild-to-moderate Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(4): 311-321.
- [23] Honig L S, Vellas B, Woodward M, et al. Trial of solanezumab for mild dementia due to Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(4): 321-330.
- [24] von Hehn C, von Rosenstiel P, Tian Y, et al. Baseline characteristics from ENGAGE and EMERGE: two phase 3 studies to evaluate aducanumab in patients with early Alzheimer's disease[C]. 71st Annual Meeting of the American-Academy-of-Neurology (AAN) Philadelphia, USA, 2019.
- [25] Biogen Inc., Eisai Co., Ltd. Biogen plans regulatory filing for aducanumab in Alzheimer's disease based on new analysis of larger dataset from phase 3 studies[EB/

- OL][R]. <http://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/biogen-plans-regulatory-filing-aducanumab-alzheimers-disease>, 2019-10-22.
- [26] Kelleher R J, Soiza R L. Evidence of endothelial dysfunction in the development of Alzheimer's disease: is Alzheimer's a vascular disorder? [J]. *Am J Cardiovasc Dis*, 2013, 3(4): 197-226.
- [27] Qian W, Shi J, Yin X, et al. PP2A regulates tau phosphorylation directly and also indirectly via activating GSK-3beta[J]. *J Alzheimers Dis*, 2010, 19(4): 1221-1229.
- [28] Liu S, Yu S, Hasegawa Y, et al. Glycogen synthase kinase 3beta is a negative regulator of growth factor-induced activation of the c-Jun N-terminal kinase[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(49): 51075-51081.
- [29] Wang H, Huang S, Yan K, et al. Tideglusib, a chemical inhibitor of GSK3beta, attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal mice[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(10): 2076-2085.
- [30] Lovestone S, Boada M, Dubois B, et al. A phase II trial of tideglusib in Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 45(1): 75-88.
- [31] Tolosa E, Litvan I, Hoglinger G U, et al. A phase 2 trial of the GSK-3 inhibitor tideglusib in progressive supranuclear palsy[J]. *Mov Disord*, 2014, 29(4): 470-478.
- [32] Hoglinger G U, Huppertz H J, Wagenpfeil S, et al. Tideglusib reduces progression of brain atrophy in progressive supranuclear palsy in a randomized trial[J]. *Mov Disord*, 2014, 29(4): 479-487.
- [33] Wischik C M, Staff R T, Wischik D J, et al. Tau aggregation inhibitor therapy: an exploratory phase 2 study in mild or moderate Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 44(2): 705-720.
- [34] Gauthier S, Feldman H H, Schneider L S, et al. Efficacy and safety of tau-aggregation inhibitor therapy in patients with mild or moderate Alzheimer's disease: a randomised, controlled, double-blind, parallel-arm, phase 3 trial[J]. *Lancet*, 2016, 388(10062): 2873-2884.
- [35] Theunis C, Crespo-Biel N, Gafner V, et al. Efficacy and safety of a liposome-based vaccine against protein tau, assessed in tau P301L mice that model tauopathy[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72301.
- [36] Novak P, Schmidt R, Kontseikova E, et al. Safety and immunogenicity of the tau vaccine AADvac1 in patients with Alzheimer's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial[J]. *Lancet Neurol*, 2017, 16(2): 123-134.
- [37] Mitchell D, Bergendahl G, Ferguson W, et al. A phase 1 trial of TPI 287 as a single agent and in combination with temozolomide in patients with refractory or recurrent neuroblastoma or medulloblastoma[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2016, 63(1): 39-46.
- [38] Arias H R. Topology of ligand binding sites on the nicotinic acetylcholine receptor[J]. *Brain Res Brain Res Rev*, 1997, 25(2): 133-191.
- [39] Dani J A, Harris R A. Nicotine addiction and comorbidity with alcohol abuse and mental illness[J]. *Nat Neurosci*, 2005, 8(11): 1465-1470.
- [40] Gotti C, Clementi F. Neuronal nicotinic receptors: from structure to pathology[J]. *Prog Neurobiol*, 2004, 74(6): 363-396.
- [41] Lena C, Changeux J P. Allosteric nicotinic receptors, human pathologies[J]. *J Physiol Paris*, 1998, 92(2): 63-74.
- [42] Leonard S, Adler L E, Benhammou K, et al. Smoking and mental illness[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2001, 70(4): 561-570.
- [43] Picciotto M R, Zoli M. Nicotinic receptors in aging and dementia[J]. *J Neurobiol*, 2002, 53(4): 641-655.
- [44] Perry E K, Martin-Ruiz C M, Court J A. Nicotinic receptor subtypes in human brain related to aging and dementia[J]. *Alcohol*, 2001, 24(2): 63-68.
- [45] Perry E, Martin-Ruiz C, Lee M, et al. Nicotinic receptor subtypes in human brain ageing, Alzheimer and Lewy body diseases[J]. *Eur J Pharmacol*, 2000, 393(1-3): 215-222.
- [46] Blozovski D. Deficits in passive avoidance learning in young rats following mecamylamine injections in the hippocampo-entorhinal area[J]. *Exp Brain Res*, 1983, 50(2-3): 442-448.
- [47] Nott A, Levin E D. Dorsal hippocampal alpha7 and alpha4beta2 nicotinic receptors and memory[J]. *Brain Res*, 2006, 1081(1): 72-78.
- [48] Levin E D, Bradley A, Addy N, et al. Hippocampal alpha7 and alpha4beta2 nicotinic receptors and working memory[J]. *Neuroscience*, 2002, 109(4): 757-765.
- [49] Levin E D, Kim P, Meray R. Chronic nicotine working and reference memory effects in the 16-arm radial maze: interactions with D1 agonist and antagonist drugs[J]. *Psychopharmacology(Berl)*, 1996, 127(1): 25-30.
- [50] Levin E D, McClernon F J, Rezvani A H. Nicotinic

- effects on cognitive function; behavioral characterization, pharmacological specification, and anatomic localization[J]. *Psychopharmacology(Berl)*, 2006, 184(3-4): 523-539.
- [51] Nagele R G, D'Andrea M R, Anderson W J, et al. Intracellular accumulation of beta-amyloid(1-42) in neurons is facilitated by the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease[J]. *Neuroscience*, 2002, 110(2): 199-211.
- [52] Davies P, Feisullin S. Postmortem stability of alpha-bungarotoxin binding sites in mouse and human brain[J]. *Brain Res*, 1981, 216(2): 449-454.
- [53] Sugaya K, Giacobini E, Chiappinelli V A. Nicotinic acetylcholine receptor subtypes in human frontal cortex: changes in Alzheimer's disease[J]. *J Neurosci Res*, 1990, 27(3): 349-359.
- [54] Hellstrom-Lindahl E, Mousavi M, Zhang X, et al. Regional distribution of nicotinic receptor subunit mRNAs in human brain: comparison between Alzheimer and normal brain[J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1999, 66(1-2): 94-103.
- [55] Guan Z Z, Zhang X, Ravid R, et al. Decreased protein levels of nicotinic receptor subunits in the hippocampus and temporal cortex of patients with Alzheimer's disease[J]. *J Neurochem*, 2000, 74(1): 237-243.
- [56] Anand P, Singh B. A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease[J]. *Arch Pharm Res*, 2013, 36(4): 375-399.
- [57] Rogers S L, Friedhoff L T. The efficacy and safety of donepezil in patients with Alzheimer's disease: results of a US multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled trial the donepezil study group[J]. *Dementia*, 1996, 7(6): 293-303.
- [58] Eldufani J, Blaise G. The role of acetylcholinesterase inhibitors such as neostigmine and rivastigmine on chronic pain and cognitive function in aging: a review of recent clinical applications[J]. *Alzheimers Dement (N Y)*, 2019, 5: 175-183.
- [59] Bhattacharya S, Maelicke A, Montag D. Nasal application of the galantamine pro-drug memogain slows down plaque deposition and ameliorates behavior in 5X familial Alzheimer's disease mice[J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 46(1): 123-136.
- [60] Shirey J K, Brady A E, Jones P J, et al. A selective allosteric potentiator of the M1 muscarinic acetylcholine receptor increases activity of medial prefrontal cortical neurons and restores impairments in reversal learning[J]. *J Neuro Sci*, 2009, 29(45): 14271-14286.
- [61] Marlo J E, Niswender C M, Days E L, et al. Discovery and characterization of novel allosteric potentiators of M1 muscarinic receptors reveals multiple modes of activity[J]. *Mol Pharmacol*, 2009, 75(3): 577-588.
- [62] Ma L, Seager M A, Wittmann M, et al. Selective activation of the M1 muscarinic acetylcholine receptor achieved by allosteric potentiation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(37): 15950-15955.
- [63] Kem W R. Alzheimer's drug design based upon an invertebrate toxin (anabaseine) which is a potent nicotinic receptor agonist[J]. *Invert Neuro Sci*, 1997, 3(2-3): 251-259.
- [64] Barbier A J, Hilhorst M, van Vliet A, et al. Pharmacodynamics, pharmacokinetics, safety, and tolerability of encenicline, a selective alpha7 nicotinic receptor partial agonist, in single ascending-dose and bioavailability studies[J]. *Clin Ther*, 2015, 37(2): 311-324.
- [65] Gault L M, Lenz R A, Ritchie C W, et al. ABT-126 monotherapy in mild-to-moderate Alzheimer's dementia: randomized double-blind, placebo and active controlled adaptive trial and open-label extension[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2016, 8(1): 44.
- [66] Timmermann D B, Gronlien J H, Kohlhaas K L, et al. An allosteric modulator of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor possessing cognition-enhancing properties *in vivo* [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 323(1): 294-307.
- [67] Nikiforuk A, Kos T, Potasiewicz A, et al. Positive allosteric modulation of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors enhances recognition memory and cognitive flexibility in rats[J]. *Eur Neuropsychopharm*, 2015, 25(8): 1300-1313.
- [68] Hashimoto K, Nishiyama S, Ohba H, et al. [¹¹C] CHIBA-1001 as a novel PET ligand for alpha7 nicotinic receptors in the brain: a PET study in conscious monkeys[J]. *PLoS One*, 2008, 3(9): e3231.
- [69] Gao Y, Kellar K J, Yasuda R P, et al. Derivatives of dibenzothiophene for positron emission tomography imaging of alpha7-nicotinic acetylcholine receptors[J]. *J Med Chem*, 2013, 56(19): 7574-7589.
- [70] Wong D F, Kuwabara H, Horti A G, et al. PET brain imaging of α_7 -nAChR with [¹⁸F]ASEM: reproducibility, occupancy, receptor density, and changes in schizophrenia[J]. *Int J Neuropsychoph*,

- 2018, 21(7): 656-667.
- [71] Lorena C, Maria D, Pedro R C, et al. *In vivo* imaging of $\alpha 7$ nicotinic receptors as a novel method to monitor neuroinflammation after cerebral ischemia[J]. *Glia*, 2018, 66(8): 1611-1624.
- [72] Halldin C, Gulyás B, Langer O, et al. Brain radioligands-state of the art and new trends[J]. *J Nucl Biol Med*, 2001, 45(2): 139-152.
- [73] Piel M, Vernaleken I, Rösch F. Positron emission tomography in CNS drug discovery and drug monitoring[J]. *J Med Chem*, 2014, 57(22): 9232-9258.
- [74] Horti A G, Villemagne V L. The quest for eldorado: development of radioligands for *in vivo* imaging of nicotinic acetylcholine receptors in human brain[J]. *Curr Pharm Design*, 2006, 12(30): 3877-3900.
- [75] Eckelman W C, Kilbourn M R, Mathis C A. Discussion of targeting proteins *in vivo*; *in vitro* guidelines[J]. *Nucl Med Biol*, 2006, 33: 449-451.
- [76] Eckelman W C, Reba R C, Gibson R E, et al. Receptor-binding radiotracers: a class of potential radiopharmaceuticals[J]. *J Nucl Med*, 1979, 20(4): 350-357.
- [77] Andrew G H. Development of [^{18}F]ASEM, a specific radiotracer for quantification of the $\alpha 7$ -nAChR with positron-emission tomography[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2015, 97(4): 566-575.
- [78] Dolle F, Valette H, Hinnen F, et al. Synthesis and preliminary evaluation of a carbon-11-labelled agonist of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor[J]. *J Label Compd Radiopharm*, 2001, 44(11): 785-795.
- [79] Pomper M G, Phillips E, Fan H, et al. Synthesis and biodistribution of radiolabeled alpha7 nicotinic acetylcholine receptor ligands[J]. *J Nucl Med*, 2005, 46(2): 326-334.
- [80] Toyohara J, Sakata M, Wu J, et al. Preclinical and the first clinical studies on [^{11}C]CHIBA-1001 for mapping alpha7 nicotinic receptors by positron emission tomography[J]. *Ann Nuc Med*, 2009, 23(3): 301-309.
- [81] Maier D L, Hill G, Min D, et al. Pre-clinical validation of a novel alpha-7 nicotinic receptor radiotracer [^3H] AZ11637326: target localization, biodistribution and ligand occupancy in the rat brain[J]. *Neuropharmacology*, 2011, 61(1): 161-171.
- [82] Ravert H T, Dorff P, Foss C A, et al. Radiochemical synthesis and *in vivo* evaluation of [^{18}F] AZ11637326: an agonist probe for the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor[J]. *Nucl Med Biol*, 2013, 40(6): 731-739.
- [83] Ettrup A, Mikkelsen J D, Lehel S, et al. ^{11}C -NS14492 as a novel PET radioligand for imaging cerebral alpha7 nicotinic acetylcholine receptors: *in vivo* evaluation and drug occupancy measurements[J]. *J Nucl Med*, 2011, 52(9): 1449-1456.
- [84] Deuther-Conrad W, Fischer S, Hiller A, et al. Molecular imaging of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors: design and evaluation of the potent radioligand [^{18}F]NS10743[J]. *Eur J Nucl Med Mol I*, 2009, 36(5): 791-800.
- [85] Deuther-Conrad W, Fischer S, Hiller A, et al. Assessment of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor availability in juvenile pig brain with [^{18}F]NS10743[J]. *Eur J Nucl Med Mol I*, 2011, 38(8): 1541-1549.
- [86] Horti A G, Ravert H T, Gao Y, et al. Synthesis and evaluation of new radioligands [^{11}C]A-833834 and [^{11}C]A-752274 for positron-emission tomography of $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptors[J]. *Nucl Med Biol*, 2013, 40(3): 395-402.
- [87] Horti A G, Gao Y, Kuwabara H, et al. ^{18}F -ASEM, a radiolabeled antagonist for imaging the alpha7-nicotinic acetylcholine receptor with PET[J]. *J Nucl Med*, 2014, 55(4): 672-677.
- [88] Wu A, Li X, Xue Q, et al. Radio synthesis and *in vivo* evaluation of two $\alpha 7$ nAChRs radioligands: [^{125}I]CAIPE and [^{125}I]IPPU[J]. *J Radioanal Nucl Chem*, 2016, 307(2): 1345-1351.
- [89] Wang H, Wu A, Liu J, et al. Radiosynthesis and *in-vivo* evaluation of [^{125}I]IBT: a single-photon emission computed tomography radiotracer for alpha7-nicotinic acetylcholine receptor imaging[J]. *Nucl Med Commun*, 2017, 38(8): 683-693.
- [90] Wang S, Fang Y, Wang H, et al. Design, synthesis and biological evaluation of 1, 4-diazobicyclo [3.2.2]nonane derivatives as alpha7-nicotinic acetylcholine receptor PET/CT imaging agents and agonists for Alzheimer's disease[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 159: 255-266.
- [91] Gao H, Wang S, Qi Y, et al. Synthesis and biological evaluation of 9-fluorenone derivatives for SPECT imaging of alpha7-nicotinic acetylcholine receptor[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019: 126724.