

# 外周苯二氮䓬受体示踪剂的合成和评价

李斌<sup>1</sup>, 李剑峰<sup>2</sup>, 傅磊<sup>3</sup>, 孙晓光<sup>1</sup>, 刘建军<sup>1</sup>, 黄钢<sup>1</sup>

(1. 上海交通大学医学院, 仁济医院核医学科, 上海 200127;

2. 中国科学院上海生命科学院上海药物研究所, 上海 201203;

3. 上海交通大学药学院, 上海 200030)

**摘要** 合成了用作外周苯二氮䓬受体潜在的选择性配体的 *N,N*-二乙基-2-(4-碘苯基)-6-三氟甲基-咪唑并[1,2-*a*]吡啶-3-乙酰胺 (ITFZOL)。其放射性标记物 [<sup>125</sup>I]ITFZOL 通过碘脱锡化反应制备, 放化得率 75% ~ 85%, 比活度大于 76 GBq/μmol。小鼠尾静脉注射 [<sup>125</sup>I]ITFZOL 后, 放射性集中分布于肾上腺、肺、肾、心、嗅球和小脑等外周苯二氮䓬受体高密度区域。预先给与外周苯二氮䓬受体选择性配体 PK11195 明显减少外周苯二氮䓬受体高密度区域放射性分布, 提示 [<sup>125</sup>I]ITFZOL 对外周苯二氮䓬受体具有较高的特异亲和性。生物活性数据表明, [<sup>125</sup>I]ITFZOL 是一种潜在的选择性外周苯二氮䓬受体单光子放射性配体。

**关键词** 外周苯二氮䓬受体; 放射性配体; 咪唑并吡啶

中图分类号 O626; O657

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2008)01-0086-04

外周苯二氮䓬受体 (Peripheral benzodiazepine receptor, PBR) 是不同于中枢苯二氮䓬受体 (Central benzodiazepine receptor, CBR) 的另一类苯二氮䓬结合位点。研究发现, PBR 在神经系统退行性疾病如帕金森氏病 (PD)、阿尔茨海默病 (AD)、亨廷顿舞蹈病 (HD) 及多发性硬化 (MS) 等神经性紊乱时其表达和密度增加<sup>[1]</sup>; 而且在不同肿瘤 (包括实体瘤, 如结肠、乳腺、卵巢、食道和脑的肿瘤) 生长过程中, PBR 也表现出过量表达和密度增加<sup>[2]</sup>。目前这种生理功能的异常变化可以借助正电子发射型计算机断层扫描显像 (PET) 或单光子发射型计算机断层扫描显像 (SPECT) 进行探测。可在分子水平上提供疾病病因及病程, 用于 PBR 受体介导的相关疾病的诊断。

近年来研究报道的高亲和性和选择性外周苯二氮䓬受体配体主要有 4 类: 苯二氮䓬类、异奎宁酰胺类、吡啶类衍生物和咪唑并吡啶类等<sup>[3]</sup>。构效关系研究揭示, 在咪唑并[1,2-*a*]吡啶-3-乙酰胺母环的 6 位上吸电子基团和疏水卤素的引入对提高咪唑并[1,2-*a*]吡啶配体与 PBR 相互作用的亲和性具有重要作用<sup>[4,5]</sup>。本文报道对 PBR 具有亲和性的 2-碘代三氟甲基咪唑并[1,2-*a*]吡啶配体的合成、标记及初步药理学评价。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

Na<sup>125</sup>I 溶液, 上海欣科医药有限公司; 雄性昆明小鼠 (体重 20 ~ 25 g), 由上海交通大学实验动物中心提供。

MAT-95 型质谱仪 (Finnigan); Mercury 400 型核磁共振仪 (Varian); 高效液相分析色谱仪 (1525 Binary, Waters); 放射性检测器 (Radioflow Detector LB508, USA); SN-684 型放射免疫 γ-计数器 (上海原子核研究所日环仪器厂)。

### 1.2 合成

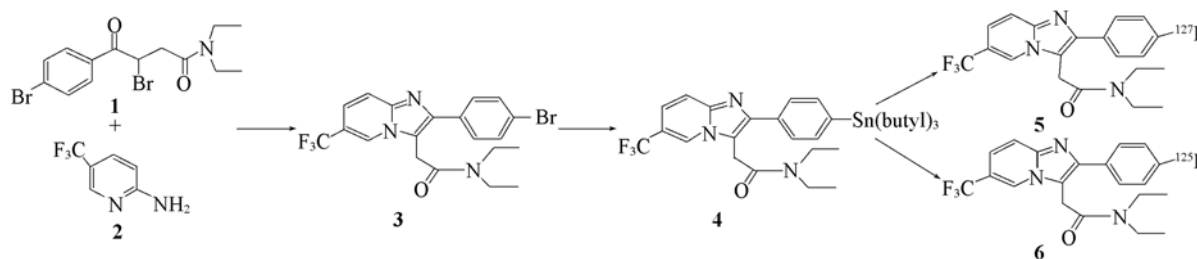
化合物 [<sup>125/127</sup>I]ITFZOL 的合成路线见 Scheme 1。

收稿日期: 2007-04-23。

基金项目: 上海市教委重点发展基金 (批准号: 04BA03) 资助。

联系人简介: 黄钢, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤核医学、放射性药物与机理研究。

E-mail: huang6176@163.com



Scheme 1 Synthetic routes of [ $^{125/127}\text{I}$ ]ITFZOL as PBR ligand

1.2.1 *N,N*-二乙基-3-溴-3-(4-溴苯甲酰基)丙酰胺的合成 合成方法参见文献[5,6]. 收率93%, 白色晶状固体, m. p. 69~70 °C.

1.2.2 *N,N*-二乙基-2-(4-溴苯基)-6-三氟甲基-咪唑并[1,2-*a*]吡啶-3-乙酰胺的合成 合成方法参见文献[5,6]. 收率62%, 白色针状晶体, m. p. 199~200 °C.  $^1\text{H NMR}$ (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 1.04(3H, t,  $J=6.9$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 1.17(3H, t,  $J=6.9$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 3.30(2H, q,  $J=6.9$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 3.45(2H, q,  $J=6.9$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 4.34(2H, s,  $-\text{CH}_2\text{CO}$ ); 7.53(1H, d,  $J=9.3$  Hz, arom); 7.60(2H, d,  $J=8.4$  Hz, arom); 7.68(2H, d,  $J=8.4$  Hz, arom); 7.78(1H, d,  $J=9.3$  Hz, arom); 8.82(1H, s, arom). MS(ESI),  $m/z$ : 455.

1.2.3 6-三氟甲基-2-(4-三正丁基锡基苯基)-3-(*N,N*-二乙基)咪唑并[1,2-*a*]吡啶-3-乙酰胺的合成 合成方法参见文献[6,7]. 收率72%, 类白色固体478 mg, m. p. 60~64 °C.  $^1\text{H NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ : 0.75~1.02[9H, m,  $-(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ ]; 1.04(3H, t,  $J=7.1$  Hz,  $-\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ); 1.17(3H, t,  $J=7.1$  Hz,  $-\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ); 1.24(18H, s,  $-\text{CH}_2$ ); 3.24[2H, q,  $J=7.1$  Hz,  $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ ]; 3.30[2H, q,  $J=7.1$  Hz,  $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ ]; 4.10(2H, s,  $-\text{CH}_2$ ); 7.24(1H, dd,  $J_1=1.7$  Hz,  $J_2=7.6$  Hz, arom); 7.50~7.60(5H, m, arom); 8.30(1H, d,  $J=1.7$  Hz, arom). MS(ESI),  $m/z$ : 666.

1.2.4 *N,N*-二乙基-2-(4-碘苯基)-6-三氟甲基-咪唑并[1,2-*a*]吡啶-3-乙酰胺的合成 合成方法参见文献[6,8]. 收率75%, 类白色固体, m. p. 198~199 °C.  $^1\text{H NMR}$ (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 1.07(3H, t,  $J=6.9$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 1.17(3H, t,  $J=6.9$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 3.32(2H, q,  $J=6.9$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 3.40(2H, q,  $J=6.9$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 4.35(2H, s,  $-\text{CH}_2\text{CO}$ ); 7.57(1H, d,  $J=9.3$  Hz, arom); 7.60(2H, d,  $J=8.4$  Hz, arom); 7.70(2H, d,  $J=8.4$  Hz, arom); 7.78(1H, d,  $J=9.3$  Hz, arom); 8.83(1H, s, arom). MS(ESI),  $m/z$ : 500.

1.2.5 *N,N*-二乙基-2-(4-[ $^{125}\text{I}$ ]碘苯基)-6-三氟甲基-咪唑并[1,2-*a*]吡啶-3-乙酰胺的合成 合成及鉴定方法参见文献[6,8]. 标记率75%~85%, 比活度超过76 GBq/ $\mu\text{mol}$ .

### 1.3 体内生物分布

将雄性昆明种小鼠, 分成7组, 每组3只, 尾静脉注射100  $\mu\text{L}$  [ $^{125}\text{I}$ ]ITFZOL溶液(约0.74 MBq, 20  $\mu\text{Ci}$ ). 同时按注射剂量配制标准管, 以便跟踪测量. 分别于注射后2, 5, 15, 30, 45, 60和120 min等不同时间段断头处死, 取血、心、肺、肝、肾、肾上腺和甲状腺, 并于冰盘上迅速剥离出大脑、小脑、丘脑、海马、纹状体和嗅球等脏器和组织, 置于预先称重的测量管中. 称量组织湿重, 用 $\gamma$ -计数器测量各组织放射性及标准管放射性, 组织对放射性配体[ $^{125}\text{I}$ ]ITFZOL的摄取剂量按每克组织中的放射性占注射剂量的百分比值计算[ $\text{mean} \pm \text{SD} (\% \text{ID/g})$ ].

### 1.4 体内抑制性

[ $^{125}\text{I}$ ]ITFZOL的特异性摄取在活体小鼠中进行. 在尾静脉注射[ $^{125}\text{I}$ ]ITFZOL(0.1 mL, 约0.74 MBq)前5 min, 注入PK11195(1.0 mg/kg, 0.1 mL, 溶于体积比1:1的DMSO/乙醇中,  $n=3$ )或空白液体[体积比1:1的DMSO/乙醇(0.1 mL,  $n=3$ )]中, 非标记PK11195的抑制效应在注射[ $^{125}\text{I}$ ]ITFZOL后30 min与预先注射空白液体相比较进行评估. 动物处理过程同上. 生物分布中脑部和外周组织摄取剂量以每克组织中注射剂量的百分数表示(% ID/g). 非标记PK11195预先处理对所选择组织摄取[ $^{125}\text{I}$ ]ITFZOL的影响以抑制的百分数表示.

## 2 结果与讨论

### 2.1 化学合成

合成咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺类化合物,文献[7]采用先合成咪唑并[1,2-a]吡啶母环,再在咪唑环3位上引入乙酰胺侧链的合成路线.该路线需用到有毒的碘甲烷和剧毒的氰化钾等,因此限制了其应用. Trapani 等<sup>[5]</sup>提出了咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺类化合物新的合成路线.本文研究发现该路线中2-氨基-5-取代吡啶的5-位取代基的性质对咪唑并[1,2-a]吡啶-3-乙酰胺产物的收率影响很大.当5-位是甲基时,如2-氨基-5-甲基吡啶,其产物的收率仅为20%左右<sup>[9]</sup>;当5-位是卤素氯时,如2-氨基-5-氯吡啶,其产物的收率为40%左右<sup>[5]</sup>;当5-位是三氟甲基时,如2-氨基-5-三氟甲基吡啶,其产物的收率为70%左右.

### 2.2 标记化合物的合成

采用锡化碘代反应在乙酸体系中制备标记化合物 $[^{125}\text{I}]$ ITFZOL.加入无载体的 $\text{Na}^{125}\text{I}$ 及过氧乙酸氧化剂,所得产物 $[^{125}\text{I}]$ ITFZOL的比活度超过76 GBq/ $\mu\text{mol}$ .产物经HPLC半制备柱分离纯化后,放射化学标记率为75%~85%,好于传统氯胺-T法(标记率为60%~70%),且无氯取代的竞争性副产物.

### 2.3 体内生物分布

表1列出了放射性配体 $[^{125}\text{I}]$ ITFZOL经小鼠尾静脉注射后体内分布结果.与预期的结果一样,在外周组织中的分布与外周苯二氮䓬受体在小鼠体内区域性分布相一致,如肾上腺的放射性摄取率最高(15.56% ID/g, 120 min),而且在所选择的时间内有增无减;其次为肺(12.07% ID/g, 2 min),虽然随着时间的延长而减少,但在所选择的时间内放射性摄取率始终仅次于肾上腺(6.22% ID/g, 120 min),肺组织高摄取量,也可能与较大的肺血流灌注量有关;肝脏早期摄取率较高(7.21% ID/g, 2 min),并随着时间的延长而减少(3.89% ID/g, 120 min),显示出配体早期可能经肝脏分泌代谢.肾脏放射性摄取率在2~45 min持速升高,分别为5.16% ID/g, 2 min和6.21% ID/g, 45 min,随后减少,表明配体可能经过肾脏代谢;心脏显示中等摄取;脑和血液有一定的放射性分布,且基本一致;甲状腺摄取率低,且不随时间的延长而增加,提示标记物在小鼠体内较稳定,生物半衰期较长.

Table 1 Biodistribution of  $[^{125}\text{I}]$ ITFZOL in mouse\*

t/min	Heart	Liver	Lung	Kidney	Adrenals	Thyroid	Blood	Brain
5	3.32 ± 0.03	7.21 ± 0.20	12.07 ± 0.11	5.16 ± 0.24	13.69 ± 0.20	0.97 ± 0.04	1.12 ± 0.00	0.48 ± 0.02
10	3.11 ± 0.24	6.68 ± 0.23	11.45 ± 0.21	5.22 ± 0.30	14.12 ± 0.30	0.89 ± 0.09	0.83 ± 0.03	0.56 ± 0.05
15	3.01 ± 0.04	6.48 ± 0.29	9.35 ± 0.19	5.42 ± 0.14	14.55 ± 0.26	0.96 ± 0.04	0.62 ± 0.02	0.58 ± 0.01
30	2.68 ± 0.14	6.21 ± 0.33	7.56 ± 0.31	5.89 ± 0.13	15.19 ± 0.40	1.03 ± 0.03	0.56 ± 0.04	0.61 ± 0.02
45	2.16 ± 0.01	6.07 ± 0.18	6.54 ± 0.20	6.21 ± 0.31	15.37 ± 0.32	1.16 ± 0.07	0.51 ± 0.01	0.54 ± 0.01
60	1.58 ± 0.02	4.35 ± 0.13	6.43 ± 0.21	5.58 ± 0.14	15.45 ± 0.27	1.01 ± 0.02	0.48 ± 0.01	0.45 ± 0.01
120	1.32 ± 0.03	3.89 ± 0.12	6.22 ± 0.12	4.79 ± 0.21	15.56 ± 0.25	0.94 ± 0.03	0.43 ± 0.05	0.38 ± 0.02

\* Results were mean ± SD percent injected dose per gram (% ID/g),  $n = 3$  mouse.

图1所示为 $[^{125}\text{I}]$ ITFZOL小鼠脑内组织分布,结果表明,注药后30 min,  $[^{125}\text{I}]$ ITFZOL在小鼠整脑中的放射性累积为0.61% ID/g.嗅球的放射性摄取率为0.63% ID/g,同时大脑皮层、小脑和纹状体显示中等摄取率,分别为(0.35 ± 0.03), (0.51 ± 0.03), (0.27 ± 0.01)% ID/g.而此时海马和丘脑摄取率较低,分别为0.25 ± 0.02和0.19% ID/g.可见注药后30 min  $[^{125}\text{I}]$ ITFZOL在嗅球和小脑的浓聚明显高于其它脑区,丘脑放射性最低,即放射性配体 $[^{125}\text{I}]$ ITFZOL在脑内的摄取从嗅球、小脑、大脑皮层、纹状体、海马到丘脑呈区域性

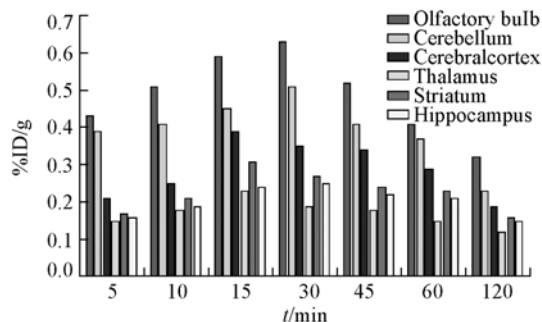


Fig. 1 Brain regional distribution of  $[^{125}\text{I}]$ ITFZOL in mice

Results were mean ± SD percent injected dose per gram (% ID/g),  $n = 3$  mouse

分布. 这一放射性分布形式与外周苯二氮受体在小鼠脑部区域性分布相一致.

#### 2.4 体内抑制性研究

体内各主要器官组织的抑制效应同文献[10]相似. 给药后 30 min 脑内抑制实验结果如图 2 所示, 嗅球的放射性摄取率由  $(0.63 \pm 0.01) \% \text{ID/g}$  下降为  $(0.24 \pm 0.01) \% \text{ID/g}$ , 减少 61.91%; 同时大脑皮质、小脑、纹状体和海马摄取率由  $(0.35 \pm 0.03)$ ,  $(0.51 \pm 0.03)$ ,  $(0.27 \pm 0.01)$  和  $(0.25 \pm 0.02) \% \text{ID/g}$  分别下降为  $(0.28 \pm 0.01)$ ,  $(0.22 \pm 0.02)$ ,  $(0.20 \pm 0.01)$  和  $(0.21 \pm 0.02) \% \text{ID/g}$ , 分别减少 45.10%, 37.14%, 25.93% 和 16.00%. 可见, 预先给与 PK11195, 对脑内嗅球的影响最明显, 而对小脑和大脑皮质的影响其次, 对纹状体和海马的影响最小.

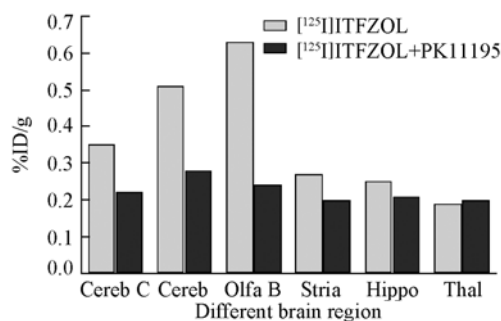


Fig. 2 Effects of competing drugs (1 mg/kg PK 11195) on  $[^{125}\text{I}]$ ITFZOL uptake in brain region

#### 参 考 文 献

- [1] Kassiou M., Meikle S. R., Banati R. B. Brain Res. Rev. [J], 2005, 48(2): 207—210
- [2] Maaser K., Grabowski P., Sutter A. P., et al. Clin. Cancer Res. [J], 2002, 8(10): 3205—3209
- [3] Zisterer D. M., Williams D. C. Gen. Pharmac. [J], 1997, 29(3): 305—314
- [4] Katsifis A., Mattner F., Dikic B., et al. Radiochim. Acta [J], 2004, 92: 305—309
- [5] Trapani G., Franco M., Riciardi L., et al. J. Med. Chem. [J], 1997, 40(19): 3109—3118
- [6] LI Bin (李斌), LI Jian-Feng (李剑峰), WANG Xue-Bin (王学斌), et al. Nucl. Tech. (核技术) [J], 2006, 29(10): 777—781
- [7] Katsifis A., Mattner F., Zhang Z., et al. Labelled Compd. Rad. [J], 2000, 43(4): 385—394
- [8] Katsifis A., Mattner F., Mardon K. Imidazo(1,2-a)pyridines as Peripheral Benzodiazepine Receptor Binding Agents, US 6379649 [P], 2002
- [9] Kumar Y., Prasad M., Nath A. Process for the Synthesis of Zolpidem, US 0054669 [P], 2005
- [10] Mattner F., Mardon K., Katsifis A., et al. Life Sciences [J], 2006, 79(3): 287—294

## Synthesis and Evaluation of a Trace for Peripheral Benzodiazepine Receptors

LI Bin<sup>1</sup>, LI Jian-Feng<sup>2</sup>, FU Lei<sup>3</sup>, SUN Xiao-Guang<sup>1</sup>, LIU Jian-Jun<sup>1</sup>, HUANG Gang<sup>1\*</sup>

(1. Department of Nuclear Medicine, Renji Hospital, Medical School of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China;

2. Shanghai Institute of Materia Medica, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China;

3. School of Pharmacy, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030, China)

**Abstract** The 2-iodophenyl-imidazo[1,2-a]-pyridines trifluoromethyl derivative (ITFZOL) was prepared to study the PBR. The  $[^{125}\text{I}]$  analogue was prepared *via* iododestannylation reaction in radiochemical yields of 75%—85% and a specific activity > 76 GBq/μmol. After injection of  $[^{125}\text{I}]$  ITFZOL into mice through the tail vein, high accumulations of radioactivity were found in PBR-rich tissues such as adrenal, lung, kidney, heart, olfactory bulb and cerebellum. Per-administration of PBR-selective PK11195 displayed a significant reduction of radioactivity, suggesting a high specific binding of  $[^{125}\text{I}]$  ITFZOL to PBR. The biological data reveal that  $[^{125}\text{I}]$  ITFZOL is a potential and selective single photo emitting radioligand for PBR.

**Keywords** Peripheral benzodiazepine receptor; Radioligand; Imidazol[1,2-a]pyridine

(Ed.: J, H, Z)