

[doi: 10.3969/j.issn.1006-7795.2013.01.003]

· 核医学专题 ·

氟-18 标记的吡啶基哒嗪灵类似物的合成及生物性能

牟甜甜¹ 张现忠^{2*} 王 蓓^{1*} 彭 程³ 马云川³ 米宏志¹

(1. 首都医科大学附属北京安贞医院核医学科, 北京 100029; 2. 厦门大学公共卫生学院分子影像暨转化医学研究中心, 厦门 361005; 3. 首都医科大学附属宣武医院 PET 中心, 北京 100053)

【摘要】 目的 设计并合成一种氟-18 标记的哒嗪灵类似物: 4-氯-2-叔丁基-5-[[6-[[4-[2-[2-[2-氟¹⁸F]乙氧基]乙氧基]乙氧基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基]-2-吡啶基]甲氧基]-3(2H)-哒嗪酮(¹⁸F)FPTP-P3, 并评价其用于心肌灌注显像的可能性。方法 采用¹⁸F 取代 OTs 前体的方法进行标记, 通过稳定性研究、脂水分配系数测定、生物分布实验等手段对标记物进行评价。结果 ¹⁸F)FPTP-P3 的总制备时间为 70~90 min, 校正后的放化产率为 36±5.6%, 放化纯>98%。¹⁸F)FPTP-P3 为脂溶性化合物, 在水溶液中可稳定放置 3 h 以上。生物分布实验结果显示,¹⁸F)FPTP-P3 在小鼠心肌具有一定的初始摄取, 且肝部清除较快, 但其心肌滞留较差。结论 ¹⁸F)FPTP-P3 不具有用于心肌显像的潜力。

【关键词】 ¹⁸F)FPTP-P3; 哒嗪灵; 心肌摄取; 生物分布**【中图分类号】** R 392; Q 2

Synthesis and biodistribution of ¹⁸F-labeled pyridyl pyridaben analogues

MOU Tiantian¹, ZHANG Xianzhong^{2*}, WANG Qian^{1*}, PENG Cheng³, MA Yunchuan³, MI Hongzhi¹

(1. Department of Nuclear Medicine, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China; 2. Center for Molecular Imaging and Translational Medicine, School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 3. PET Center of Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China)

【Abstract】 Objective A fluorine-18 labeled pyridazinone derivative: 4-chloro-2-tert-butyl-5-[[6-[[4-[2-[2-[2-¹⁸F] fluoroethoxy] ethoxy] ethoxy]-1H-1,2,3-triazol-1-yl] methyl]-2-pyridinyl] methoxy]-3(2H)-pyridazinone (¹⁸F)FPTP-P3) was designed and prepared, and its potential as a myocardial perfusion imaging agent was evaluated. **Methods** ¹⁸F)FPTP-P3 was prepared by substituting tosyl of precursor with ¹⁸F. The tracer was evaluated by stability study, octanol/water partition coefficient and biodistribution study. **Results** The total radio-synthesis time was 70-90 min, typical decay-corrected radiochemical yield was 36±5.6%, and the radiochemical purity (RCP) was >98% after purification. It is a lipophilic compound, and stable in water for 3 h. The results of biodistribution study in mice showed that ¹⁸F)FPTP-P3 had certain initial heart uptake and the clearance of liver was very fast as well. However the retention of heart uptake was not ideal. **Conclusion** ¹⁸F)FPTP-P3 is not suitable for heart imaging *in vivo*.

【Key words】 ¹⁸F)FPTP-P3; pyridaben; heart uptake; biodistribution

心肌灌注显像是目前冠状动脉性心脏病诊断、疗效评价以及预后判断最重要的影像学方法。近年来,¹⁸F 标记心肌灌注显像剂被报道,成为放射性药物研究的新热点^[1-3]。

已报道^[4]的¹⁸F 标记的心肌灌注显像剂中,线粒体复合体抑制剂哒嗪灵衍生物的生物性能较为突出。如 BMS-747158-02 (flurpiridaz)^[2-7]、2-叔丁基-5-[[4-2-氟¹⁸F]乙氧基]苄基]甲氧基]-4-氯-3(2H)-哒嗪酮(2-tert-butyl-5-[[4-(2-¹⁸F] fluoroethoxy) benzyl] methoxy]-4-

chloro-2H-pyridazin-3-one,¹⁸F)FP1OP)^[8]等均有着较高的心肌摄取和良好的靶与非靶比值。其中 flurpiridaz 已经获得 FDA 批准进入 III 期临床试验。

哒嗪灵(图 1)的结构由“头盔”、连接链以及侧链组成。Purohit 等^[9]已经对其中的头盔部分和连接链部分进行了较为深入的构效关系研究,但有关侧链部分的研究则很少被报道。本课题组过往对¹⁸F)FP1OP 和 2-叔丁基-5-[[4-2-(2-氟¹⁸F]乙氧基)乙氧基]苄基]甲氧基]-4-氯-3(2H) 哒嗪酮(2-tert-butyl-

基金项目: 国家自然科学基金(20871020, 81271613, 21271030) 北京市自然科学基金(2092018) 资助项目。This study was supported by National Natural Science Foundation of China (20871020, 81271613, 21271030) and Natural Science Foundation of Beijing (2092018) .

* Corresponding author, E-mail: zhangxzh@hotmail.com; 13801043425@vip.sina.com

网络出版时间:2013-01-17 22:22 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3662.R.20130117.2222.018.html>

5-[4-[2-(2-[¹⁸F] fluoroethoxy)] ethoxy] benzyl] methoxy]-4-chloro-2H-pyridazin-3-one, [¹⁸F]FP2OP) 的研究^[1,8]显示,吡嗪灵侧链的结构变化可以在较大程度上影响其药代性质,是构效关系中较为重要的部分。但已报道的心肌灌注显像剂^[1,5,8]皆以对位取代的苯基作为侧链,对于在侧链苯环上引入杂原子抑或改变苯环的取代位置是否会影响心肌摄取,目前尚未见文献报道。因此,有必要对其侧链进行更大范围的结构修饰,拓宽该类标记物的设计思路,以期筛选出性能更好的心肌灌注显像剂。另外,考虑到先前报道的 [¹⁸F]FP1OP 和 [¹⁸F]FP2OP 具有水溶液中稳定性较差的缺点,也需要设计合成一类更为稳定的示踪剂。鉴于此,本工作拟尝试对吡嗪灵进行进一步修饰,以间位取代的吡啶基作为吡嗪灵衍生物的侧链,制备 4-氯-2-叔丁基-5-[6-[4-[2-[2-[2-氟 [¹⁸F]乙氧基]乙氧基]乙氧基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基]-2-吡啶基]甲氧基]-3(2H)-吡嗪酮 (4-chloro-2-tert-butyl-5-[6-[4-[2-[2-[2-[¹⁸F] fluoroethoxy] ethoxy] ethoxy]-1H-1,2,3-triazol-1-yl] methyl]-2-pyridinyl] methoxy]-3(2H)-pyridazinone, [¹⁸F]FPTP-P3), 研究该类标记物的稳定性和生物性能,并探索在侧链苯环上引入杂原子并改变芳环的取代位置对该类化合物心肌摄取的影响。

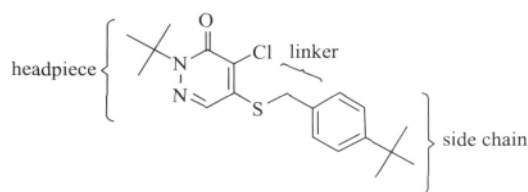


图1 吡嗪灵的结构图

Fig. 1 The structure of pyridaben

1 实验材料

1.1 主要仪器与装置

高效液相色谱仪岛津 LC-20AT: 日本岛津公司产品; AVATAR 360 红外光谱: 美国 Nicolet 公司产品; Avance 500 核磁共振谱仪: 瑞士 Bruker AG 公司产品; RM-905a 放射性活度计: 中国计量科学研究院产品; Venusil MP-C18 半制备色谱柱 250×10 mm 5 μm: 美国 Agela Technologies 公司产品; WALLAC/WIZARD 1470γ 计数仪: 美国 PerkinElmer 公司产品。

1.2 主要材料与试剂

[¹⁸F]F⁻: 北京宣武医院提供; 三乙二醇(99%): 美国 Alfa Aesar 公司产品; L-抗坏血酸钠(99%): 美国

Alfa Aesar 公司产品; 对甲苯磺酰氯(98%): 美国 Alfa Aesar 公司产品; 正四丁基氟化铵(1M 四氢呋喃溶液): 美国 Alfa Aesar 公司产品; 碳酸铯(99%): 美国 Alfa Aesar 公司产品; 糠醛(98%): 美国 Alfa Aesar 公司产品; 叔丁基胍盐酸盐(98%): 美国 Acros Organics 公司产品; 4-二甲氨基吡啶(DMAP)(99%): 美国 Acros Organics 公司产品; 二异丙基乙胺(DIPEA)(99%): 美国 Alfa Aesar 公司产品; 2,6-吡啶二甲醇(98%): 美国 Acros Organics 公司产品; 3-溴丙炔(80% 甲苯溶液) 美国 Sigma-Aldrich 公司产品; Krypto-fix 2.2.2. (K₂₂₂): 美国 Sigma-Aldrich 公司产品。

2 实验方法

2.1 [¹⁹F]FPTP-P3 的合成

稳定的参考物质 4-氯-2-叔丁基-5-[6-[4-[2-[2-[2-氟 [¹⁹F]乙氧基]乙氧基]乙氧基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基]-2-吡啶基]甲氧基]-3(2H)-吡嗪酮(4-chloro-2-tert-butyl-5-[6-[4-[2-[2-[2-[¹⁹F] fluoroethoxy] ethoxy] ethoxy]-1H-1,2,3-triazol-1-yl] methyl]-2-pyridinyl] methoxy]-3(2H)-pyridazinone, [¹⁹F]FPTP-P3) 的合成路线详见图 2。2-叔丁基吡嗪酮(2-tert-butyl-4,5-dichloro-2H-pyridazin-3-one, DCP) 按参考文献[1]合成。

将 1.39 g(10 mmol) 2,6-吡啶二甲醇、2.58 g(10 mmol) DCP、3.26 g(10 mmol) Cs₂CO₃ 和 10 mL 无水 DMF 加至 50 mL 茄形瓶中, 68 °C 油浴反应 12 h。反应液冷却至室温, 用 50 mL 乙酸乙酯稀释后抽滤。滤液转移至 250 mL 分液漏斗, 分别用 50 mL 水洗 5 次。有机相经 MgSO₄ 干燥, 抽滤后旋蒸滤液, 经 200~300 目的硅胶柱纯化, 展开剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 1:1, 得到 1.30 g 4-氯-2-叔丁基-5-[6-羟甲基-2-吡啶基]甲氧基]-3(2H)-吡嗪酮(4-chloro-2-tert-butyl-5-[6-hydroxymethyl-2-pyridinyl] methoxy]-3(2H)-pyridazinone, IP-OH), 产率 40%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.674 (s, 9H, N(CH₃)₃), 4.805 (s, 2H, CH₂-O-C=C-Cl), 5.436 (s, 2H, CH₂OH), 7.280, 7.517 (d, 2H, pyridyl), 7.784 (s, 1H, n=C-H), 7.801 (d, 1H, pyridyl); IR (CH₂Cl₂ cm⁻¹) ν: 3425 (O-H), 1643 (C=O), 1259 (=C-O-C)。

将 1.30 g(4.0 mmol) IP-OH、0.92 g(4.8 mmol) 对甲基苯磺酰氯、0.59 g(4.8 mmol) 4-二甲氨基吡啶、0.62 g(4.8 mmol) 二异丙基乙胺(DIPEA) 和 50 mL 无水二氯甲烷加至 100 mL 茄形瓶中, 搅拌 2 h。旋蒸除

溶剂后, 反应液用 100 mL 乙酸乙酯溶解, 转移至 250 mL 分液漏斗中, 分别用 100 mL 0.1 mol/L HCl 和 100 mL 水洗。有机相用无水 Na_2SO_4 干燥, 抽滤后旋蒸滤液, 经 200 ~ 300 目的硅胶柱纯化, 展开剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1, 得到 1.24 g 4-氯-2-叔丁基-5-[6-对甲苯磺酰基甲氧基-2-吡啶基]甲氧基]-3(2H)-吡嗪酮 (4-chloro-2-tert-butyl-5-[6-[toluene sulfonyl] methoxy-2-pyridinyl] methoxy]-3(2H)-pyridazinone, IP-OTs), 产率 65%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.639 (s, 9H, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$), 2.454 (s, 3H, phenyl- CH_3), 5.154 (s, 2H, CH_2OS), 5.339 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O-C}=\text{C-Cl}$), 7.358 (d, 2H, $\text{CH}_3\text{-phenyl}$), 7.423, 7.503 (d, 2H, pyridyl), 7.748 (s, 1H, $n=\text{C-H}$), 7.810-7.852 (d, 3H, phenyl- SO_3 , pyridyl); IR (CH_2Cl_2 cm^{-1}) ν : 1652 (C=O), 1259 (=C-O-C)。

将 1.24 g (2.6 mmol) IP-OTs、0.51 g (7.9 mmol) NaN_3 和 40 mL 乙醇加至 100 mL 烧瓶中加热回流 2 h。旋蒸除去溶剂后, 加入 100 mL 二氯甲烷, 抽滤。滤液用 100 mL 水洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥。抽滤后旋蒸滤液, 经 200 ~ 300 目的硅胶柱纯化, 展开剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 4 : 1, 得到 0.83 g 4-氯-2-叔丁基-5-[6-叠氮基甲氧基-2-吡啶基]甲氧基]-3(2H)-吡嗪酮 (4-chloro-2-tert-butyl-5-[6-azidomethoxy-2-pyridinyl]methoxy]-3(2H)-pyridazinone, IP- N_3), 产率 92%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.639 (s, 9H, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$), 2.454 (s, 3H, phenyl- CH_3), 5.154 (s, 2H, CH_2OS), 5.339 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O-C}=\text{C-Cl}$), 7.358 (d, 2H, $\text{CH}_3\text{-phenyl}$), 7.423, 7.503 (d, 2H, pyridyl), 7.748 (s, 1H, $n=\text{C-H}$), 7.810-7.852 (m, 3H, phenyl- SO_3 , pyridyl); 熔点: 119-120 $^\circ\text{C}$; IR (CH_2Cl_2 cm^{-1}) ν : 1655 (C=O), 1262 (=C-O-C)。

0 $^\circ\text{C}$ 氮气保护下, 将 20 mmol 三乙二醇溶于重蒸的 THF 中, 缓慢加入 0.31 g (13 mmol) NaH。搅拌 30 min 后, 缓慢注入 1.98 g 80% 的 3-溴丙炔的甲苯溶液, 搅拌 2 h。室温搅拌 20 h, 将反应液倒入水中, 用 100 mL 二氯甲烷萃取, 有机相经无水 Na_2SO_4 干燥。抽滤后旋蒸滤液, 经 200 ~ 300 目的硅胶柱纯化, 展开剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 1, 得到 2.34 g 2-[2-[2-[2-羟乙基]乙氧基]乙氧基]丙炔 ([2-[2-[2-hydroxyethyl]ethoxy]ethoxy] propyne, A3-OH), 产率 62%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 2.357 (s, 1H, O-H), 2.442 (t, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 3.609-3.749 (m,

12H, $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3$), 4.215 (d, 2H, $\text{C}\equiv\text{CCH}_2$); IR (CH_2Cl_2 cm^{-1}) ν : 3423 (O-H), 3287 (C=C)。

将 1.65 g (12 mmol) 4-二甲氨基吡啶、1.74 g (13 mmol) 二异丙基乙胺加至 100 mL 三口瓶中, 氮气保护下加入 20 mL 含 12 mmol A3-OH 的二氯甲烷溶液。冰浴下滴加 30 mL 含 2.56 g (13 mmol) 对甲苯磺酰氯的二氯甲烷溶液, 冰浴 50 min, 随后室温搅拌 30 min。反应物经冰的 0.1 mol/L 盐酸和冰水洗涤后, 经无水 Na_2SO_4 干燥。抽滤后旋蒸滤液, 经 200 ~ 300 目的硅胶柱纯化, 展开剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 2 : 1, 得到 3.96 g 2-[2-[2-[2-对甲苯磺酰基乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙炔 ([2-[2-[2-[toluene sulfonyl] ethoxy] ethoxy] ethoxy] propyne, A3-OTs), 产率 95%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 2.041 (s, 1H, O-H), 2.429 (t, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 2.445 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-phenyl}$), 3.588-3.698 (m, 10H, $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OS}$), 4.106-4.190 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OS}$, $\text{C}\equiv\text{CCH}_2$), 7.341 (d, 2H, $\text{CH}_3\text{-phenyl}$), 7.796 (d, 2H, phenyl- SO_3); IR (CH_2Cl_2 cm^{-1}) ν : 3287 (C=C)。

在氮气保护下, 将 4 mL 水加至 0.46 g (1.8 mmol) 五水合硫酸铜和 1.46 g (5.4 mmol) L-抗坏血酸钠中, 搅拌至反应液呈棕黄色。然后依次加入 1.5 mL 含 1.29 g (3.7 mmol) IP- N_3 的 DMF 溶液和 1.5 mL 含 3.7 mmol A3-OTs 的 N,N-二甲基甲酰胺溶液, 密封状态下室温搅拌 1 ~ 2 d。反应液经 100 mL 二氯甲烷稀释后, 用 100 mL 水洗涤, 有机相经无水 Na_2SO_4 干燥。抽滤后旋蒸滤液, 经 200 ~ 300 目的硅胶柱纯化, 展开剂为石油醚: 乙酸乙酯 = 1 : 9, 得到 1.92 g 4-氯-2-叔丁基-5-[6-[4-[2-[2-[2-对甲苯磺酰基乙氧基]乙氧基]乙氧基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基]-2-吡啶基]甲氧基]-3(2H)-吡嗪酮 (4-chloro-2-tert-butyl-5-[6-[4-[2-[2-[2-[toluene sulfonyl] ethoxy] ethoxy] ethoxy]-1H-1,2,3-triazol-1-yl] methyl]-2-pyridinyl] methoxy]-3(2H)-pyridazinone, PTP-P3OTs), 产率 75%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.647 (s, 9H, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$), 2.436 (s, 3H, phenyl- CH_3), 3.574-3.706 (m, 10H, $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OS}$), 4.095-4.150 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OS}$), 4.701 (s, 2H, N-CH_2), 5.403 (s, 2H, triazolyl- $\text{CH}_2\text{-pyridyl}$), 5.683 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O-C}=\text{C-Cl}$), 7.188 (d, 1H, pyridyl), 7.325 (d, 2H, $\text{CH}_3\text{-phenyl}$), 7.552 (d, 1H, pyridyl), 7.762-7.825 (m, 5H, phenyl- SO_3 , triazolyl, $n=\text{C-H}$, pyridyl); ^{13}C NMR (100 MHz;

CDCl₃) δ: 27.89, 55.23, 60.38, 64.69, 66.58, 68.70, 69.26, 69.85, 70.54, 70.59, 70.76, 71.93, 118.26, 121.06, 121.99, 123.37, 124.91, 127.96, 129.84, 133.05, 138.71, 144.84, 145.67, 153.47, 154.33, 155.27, 158.93; IR (CH₂Cl₂ cm⁻¹) ν: 1646 (C=O)。

将1 mL 1 mol/L 四正丁基氟化铵的 THF 溶液加至 25 mL 反应瓶中, 110 °C 氮气吹干。加入 1 mL 无水乙腈蒸发至干, 重复三次。将 0.5 mmol PTP-P3OTs 溶于 10 mL 无水乙腈, 加至反应瓶中, 回流 40 min。反应液经旋蒸后, 用 20 mL 二氯甲烷溶解, 用 20 mL 水洗涤。有机相用 MgSO₄ 干燥, 抽滤后旋蒸滤液, 经 200 ~ 300 目的硅胶柱纯化, 展开剂为石油醚: 乙酸乙

酯=2:3, 得到 137 mg [¹⁹F]FPTP-P3, 产率 63%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.638 (s, 9H, N(CH₃)₃), 2.129 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 2.874 (t, 2H, CH₂CH₂F), 4.499 (dt, 2H, CH₂F), 5.386 (s, 2H, triazolyl-CH₂-pyridyl), 5.636 (s, 2H, CH₂-O-C=C-Cl), 7.138, 7.512 (d, 2H, pyridyl), 7.478 (s, 1H, triazolyl), 7.763-7.802 (m, 2H, pyridyl, n=C-H); ¹³C NMR (100 MHz; CDCl₃) δ: 27.83, 29.96 (d, J=20 Hz), 31.82, 44.14, 55.24, 66.58, 72.02, 83.08 (d, J=164 Hz), 118.32, 121.05, 121.68, 124.90, 138.63, 147.40, 153.48, 154.63, 155.26, 158.92; ¹⁹F NMR δ: -220.49。

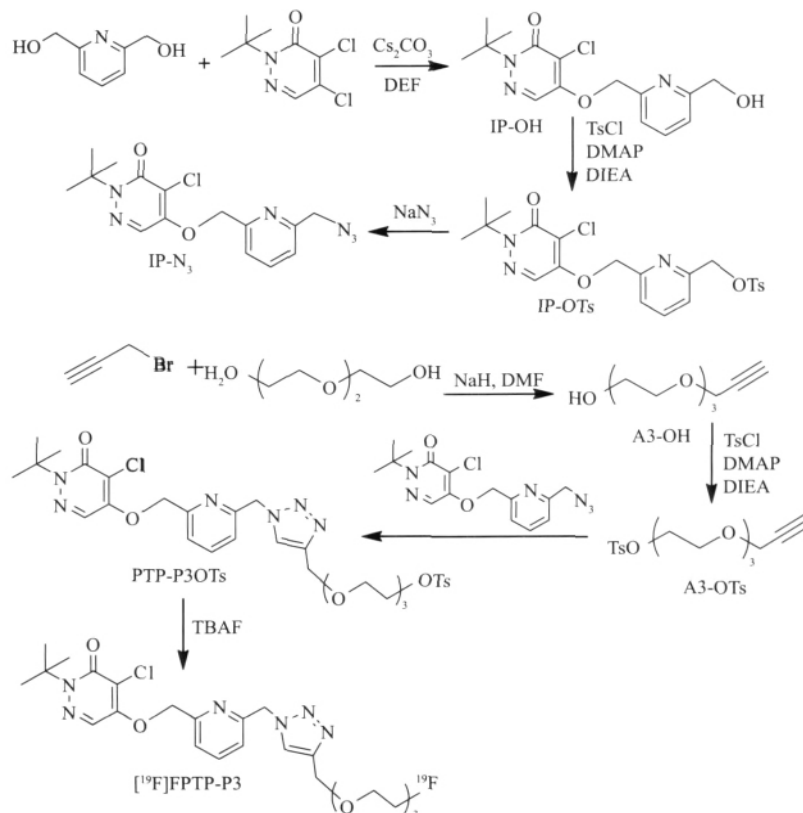


图2 [¹⁹F]FPTP-P3的合成路线

Fig. 2 The synthesis route of [¹⁹F]FPTP-P3

[¹⁹F]FPTP-P3: 4-氯-2-叔丁基-5-[[6-[[4-[2-[2-[2-¹⁹F]氟乙氧基]乙氧基]乙氧基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基]-2-吡啶基]甲氧基]-3(2H)-吡啶啉; IP-OH: 4-氯-2-叔丁基-5-[[6-(羟甲基-2-吡啶基)甲氧基]-3(2H)-吡啶啉; IP-OTs: 4-氯-2-叔丁基-5-[[6-(甲苯磺基)甲氧基]-3(2H)-吡啶啉]; A3-OH: [2-[2-[2-羟基乙基]乙氧基]乙氧基]丙炔; A3-OTs: [2-[2-[2-(甲苯磺基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]丙炔; PTP-P3OTs: 4-氯-2-叔丁基-5-[[6-[[4-[2-[2-[2-(甲苯磺基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]-1H-1,2,3-三唑-1-基]甲基]-2-吡啶基]甲氧基]-3(2H)-吡啶啉。

2.2 [¹⁸F]FPTP-P3的合成

放射性 [¹⁸F]FPTP-P3 的标记路线详见图 3。

将 0.3 mL 含有 1 mg K₂CO₃ 的水溶液和 1 mL 含有 11 mg K₂₂₂ 的乙腈溶液混合, 用上述混合液将 [¹⁸F]F⁻ 从

QMA 柱淋洗至 10 mL 反应瓶中, 110 °C 氮气吹干。加入 0.5 mL 无水乙腈蒸发至干, 重复三次。将 2 mg PTP-P3OTs 溶于 1 mL 无水乙腈, 加至反应瓶中, 90 °C 插针头反应 30 min。反应结束后冷却至室温, 注入 C-18 反相半

制备柱, 收集保留时间为 17 ~ 18.5 min 的组分, 即为 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3。HPLC 条件为: A 相为水 B 相为乙腈; 淋

洗梯度为: 0 ~ 5 min: 95% A 5.01 ~ 8 min: 95% ~ 60% A, 8.01 ~ 19 min: 60% ~ 30% A, 19.01 ~ 30 min: 0% A。

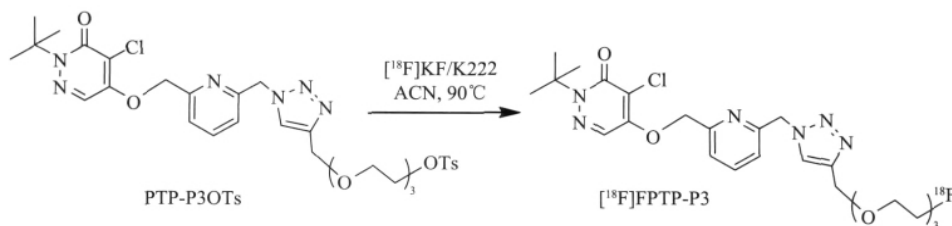


图 3 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 的合成路线

Fig. 3 The synthesis route of $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3

PTP-P3OTs: 4-chloro-2-tert-butyl-5-[[6-[[4-[2-[2-[2-(toluene sulfonyl) ethoxy] ethoxy] ethoxy]-1H-1,2,3-triazol-1-yl] methyl]-2-pyridinyl] methoxy]-3(2H)-pyridazinone; **$[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3:** 4-chloro-2-tert-butyl-5-[[6-[[4-[2-[2-[2- $[^{18}\text{F}]$ fluoroethoxy] ethoxy] ethoxy]-1H-1,2,3-triazol-1-yl] methyl]-2-pyridinyl] methoxy]-3(2H)-pyridazinone.

2.3 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 的稳定性研究

将 1.85 MBq 经 HPLC 纯化后的 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 溶于 1 mL 水中, 在室温下放置 3 h, 每隔 1 h 取 0.2 mL 溶液, 通过 HPLC 进行检测。

2.4 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 脂水分配系数的测定

配制 0.025 mol/L KH_2PO_4 溶液, 加入适量 NaOH 溶液, 调节 pH 值为 7.4, 得到 PBS 缓冲溶液, 加入与之等体积的正辛醇, 充分振荡后室温静置一天以上。取上层正辛醇 0.6 mL, 下层 PBS 液 0.58 mL, 并取 0.02 mL $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 水溶液混合, 用涡旋混合器振荡 3 ~ 5 min, 充分混匀。然后离心 5 min, 在有机相和水相中分别平行取 3 个样, 每个样 0.1 mL, 用 γ 计数器测量其放射性活度, 每个样品平行测定 3 次。计算出分配系数 $\log P$ 值。

2.5 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 在正常小鼠中的生物分布

经正常昆明小鼠(体质量约为 18 ~ 20 g)的尾静脉注射 0.1 mL $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 水溶液(0.185 MBq/0.1 mL), 注射后 2 min、15 min、30 min 和 60 min 将其断头处死。取心、肝、脾、肺、肉、骨、血、肾等有关组织和器官, 擦净后称重, 并在 γ 计数器上测定放射性计数, 计算各组织的每克百分注射剂量(the percentage of injected dose per gram, %ID/g)。

3 结果

3.1 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 的放化产率及放化纯度

从 $[^{18}\text{F}]$ F⁻ 起, 至纯化完毕, 制备总时间为 70 ~ 90 min, 衰变校正后的放化产率为 36% \pm 5.6%。产物的放化纯 > 98%, 比活度约为 5 GBq/ μmol 。 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 的保留时间为 17.7 min, 和相应的参考物质 $[^{19}\text{F}]$ FPTP-P3 的保留时间 17.6 min 一致(图 4)。

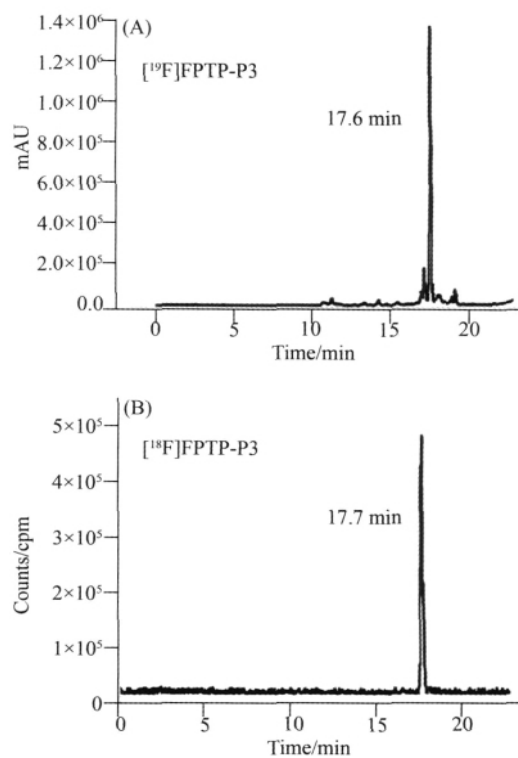


图 4 $[^{18/19}\text{F}]$ FPTP-P3 的 HPLC 图谱

Fig. 4 The HPLC chromatograms of $[^{18/19}\text{F}]$ FPTP-P3

$[^{18/19}\text{F}]$ FPTP-P3: 4-chloro-2-tert-butyl-5-[[6-[[4-[2-[2-[2- $[^{18/19}\text{F}]$ fluoroethoxy] ethoxy] ethoxy]-1H-1,2,3-triazol-1-yl] methyl]-2-pyridinyl] methoxy]-3(2H)-pyridazinone.

3.2 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 的稳定性研究

由图 5 可见, $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 在水溶液中的稳定性较好, 室温放置 3 h 后, 放射化学纯度仍 > 98%。

3.3 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 脂水分配系数的测定

实验测得 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 的 $\log P$ 值为 0.72 \pm 0.11, 表明其为脂溶性物质。

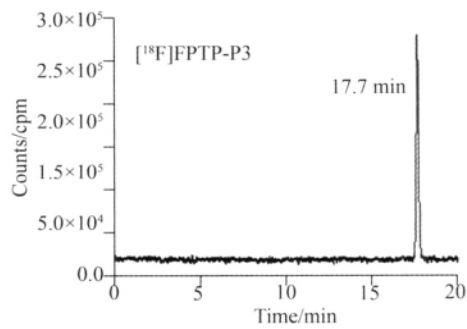


图 5 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 在水溶液中室温放置 3 h 后的 HPLC 图谱

Fig. 5 The HPLC chromatograms of $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3, incubated in water for 3 h

$[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3: 4-chloro-2-tert-butyl-5-[6-[4-[2-[2-[^{18}F] fluoroethoxy] ethoxy] ethoxy]-1H-1,2,3-triazol-1-yl] methyl]-2-pyridinyl] methoxy]-3(2H)-pyridazinone.

3.4 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 在正常小鼠中的生物分布

由表 1 数据可见, $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 在小鼠的心肌中有着一定的初始摄取, 注射后 2 min 为 $(19.49 \pm 2.17) \% \text{ID/g}$ 。说明将侧链中对位取代的苯基改为间位取代的吡啶基, 并不会显著降低该类标记物在心肌中的初始摄取, 也就是说吡啶基的侧链结构可以进行较大的结构修饰。另一方面, 与 $[^{18}\text{F}]$ FP1OP 和 $[^{18}\text{F}]$ FP2OP 类似, $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 在肝中的清除较快, 这可能是由于连有 PEG 链的标记物能够快速地被肝代谢。此外, $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 在心肌中的滞留较差, 注射后 15 min 清除率就已达到 58.6%。这应该与它较低的脂溶性 ($\log P = 0.72 \pm 0.11$) 有关。因此, 后续设计的心肌灌注显像剂应具有一定的脂溶性。

表 1 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 在正常小鼠中的生物分布
Tab. 1 The biodistribution results of $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 in normal mice

Item	2 min	15 min	30 min	60 min
Heart	19.49±2.17	8.07±1.67	5.20±0.51	4.79±0.31
Liver	9.28±0.60	6.05±1.10	4.48±0.46	3.66±0.41
Spleen	4.84±0.76	5.17±0.51	4.42±0.41	4.49±0.56
Lung	5.63±0.60	5.22±0.75	4.53±0.68	4.03±0.49
Muscle	5.63±0.97	4.56±0.90	4.45±0.97	3.27±0.18
Bone	5.81±1.26	6.85±2.82	8.60±1.32	8.70±2.31
Kidney	24.48±4.08	9.24±0.73	5.08±0.72	3.81±0.48
Blood	5.36±0.32	5.29±0.69	4.91±0.52	4.61±0.40
Heart/Liver	2.10	1.33	1.16	1.31
Heart/Lung	3.46	1.55	1.15	1.19
Heart/Blood	3.64	1.52	1.06	1.04

$[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3: 4-chloro-2-tert-butyl-5-[6-[4-[2-[2-[^{18}F] fluoroethoxy] ethoxy] ethoxy]-1H-1,2,3-triazol-1-yl] methyl]-2-pyridinyl] methoxy]-3(2H)-pyridazinone.

4 讨论

本工作设计并制备了一种氟-18 标记的吡啶灵类似物 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3。其保留时间和相应的参考物质 $[^{19}\text{F}]$ FPTP-P3 的保留时间一致, 说明所得到的标记物为目标产物 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3。与先前报道^[8]的 $[^{18}\text{F}]$ FP1OP 和 $[^{18}\text{F}]$ FP2OP 相比, $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 在水溶液中的稳定性有显著提高。因此在稳定性方面, 该标记物的结构可以为将来同类型标记化合物的设计提供参考。 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 的脂溶性明显低于先前报道的化合物 $[^{18}\text{F}]$ FP3OP, 应该与其结构中的侧链由苯基变为吡啶基有直接关系。生物分布实验结果显示, $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 在小鼠心肌具有一定的初始摄取。说明将侧链中对位取代的苯基改为间位取代的吡啶基, 并不会显著降低该类标记物在心肌中的初始摄取。换言之, 吡啶基的侧链结构具有较大的结构修饰空间。考虑到侧链对于该类化合物药代性质所起的重要作用, 通过改变侧链芳环结构很可能会筛选出性能更佳的心肌灌注显像剂。此外, 尽管 $[^{18}\text{F}]$ FPTP-P3 的肝部清除较快。但其脂溶性过低导致心肌滞留较差, 不具有用于心肌显像的潜力。因此, 在今后心肌灌注显像剂的设计中, 应使标志物具有适当的脂溶性。

5 参考文献

- [1] Mou T, Jing H, Yang W, et al. Preparation and biodistribution of $[^{18}\text{F}]$ FP2OP as myocardial perfusion imaging agent for positron emission tomography [J]. Bioorg Med Chem, 2010, 18(3): 1312-1320.
- [2] Huisman M C, Higuchi T, Reder S, et al. Initial characterization of an ^{18}F -labeled myocardial perfusion tracer [J]. J Nucl Med, 2008, 49(4): 630-636.
- [3] Yu M, Bozek J, Guaraldi M, et al. Cardiac imaging and safety evaluation of BMS747158, a novel PET myocardial perfusion imaging agent, in chronic myocardial compromised rabbits [J]. J Nucl Cardiol, 2010, 17(4): 631-636.
- [4] Yu M, Guaraldi M T, Bozek J, et al. Effects of food intake and anesthetic on cardiac imaging and uptake of BMS747158-02 in comparison with FDG [J]. J Nucl Cardiol, 2009, 16(5): 763-768.
- [5] Yalamanchili P, Wexler E, Hayes M, et al. Mechanism of uptake and retention of F-18 BMS-747 158-02 in cardiomyocytes: a novel PET myocardial imaging agent [J]. J Nucl Cardiol, 2007, 14(6): 782-788.

- [6] Maddahi J , Czernin J , Lazewatsky J , et al. Phase I , First-in-Human Study of BMS747158 , a Novel ^{18}F -Labeled tracer for myocardial perfusion PET: dosimetry , biodistribution , safety , and imaging characteristics after a single injection at rest [J]. *J Nucl Med* , 2011 , 52(9) : 1490-1498.
- [7] Sherif H M , Nekolla S G , Saraste A , et al. Simplified quantification of myocardial flow reserve with flurpiridaz F 18: validation with microspheres in a pig model [J]. *J Nucl Med* , 2011 , 52(4) : 617-624.
- [8] Mou T , Zhao Z , Fang W , et al. Synthesis and preliminary evaluation of ^{18}F -labeled pyridaben analogues for myocardial perfusion imaging with positron emission tomography [J]. *J Nucl Med* , 2012 , 53(3) : 472-479.
- [9] Purohit A , Radeke H , Azure M , et al. Synthesis and biological evaluation of pyridazinone analogues as potential cardiac positron emission tomography tracers [J]. *J Med Chem* , 2008 , 51(10) : 2954-2970.

(收稿日期: 2012-12-06)

编辑 孙超渊