



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114057698 B

(45) 授权公告日 2023.08.15

(21) 申请号 202010799133.5
 (22) 申请日 2020.08.10
 (65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 114057698 A
 (43) 申请公布日 2022.02.18
 (73) 专利权人 暨南大学附属第一医院(广州华
 侨医院)
 地址 510630 广东省广州市黄埔大道西613
 号
 (72) 发明人 王璐 肖智伟 黎国聪 魏俊杰
 朱鸿浩 侯露 蔡其君 张玲玲
 徐浩
 (74) 专利代理机构 北京中济纬天专利代理有限
 公司 11429
 专利代理师 于跃

C07D 405/14 (2006.01)
 C07F 5/02 (2006.01)
 C07B 59/00 (2006.01)
 A61K 51/04 (2006.01)
 A61K 31/517 (2006.01)
 A61K 31/69 (2006.01)
 A61P 25/18 (2006.01)
 A61P 25/16 (2006.01)
 A61P 25/08 (2006.01)
 A61P 25/14 (2006.01)
 A61K 101/02 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 106866675 A, 2017.06.20
 CN 111116595 A, 2020.05.08
 US 2012202829 A1, 2012.08.09

审查员 郝鹏

(51) Int. Cl.

C07D 403/06 (2006.01)

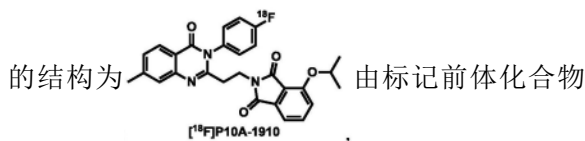
权利要求书2页 说明书10页 附图4页

(54) 发明名称

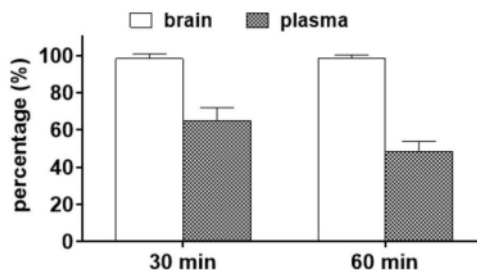
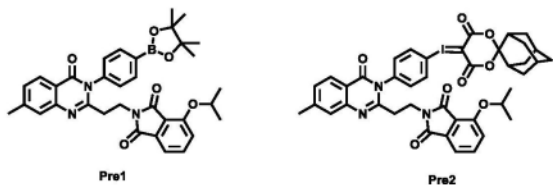
PDE10A受体靶向型正电子药物^[18F]P10A-1910的研制与应用

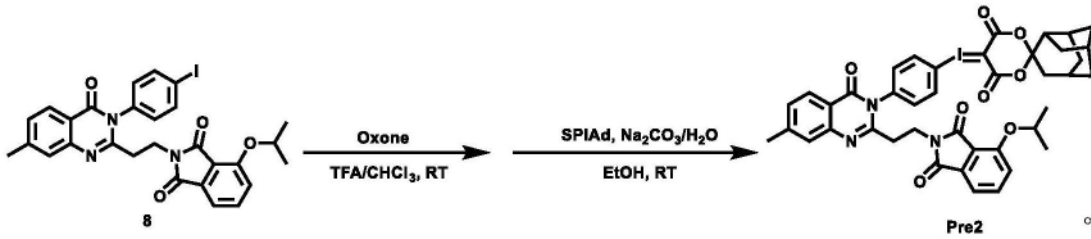
(57) 摘要

本发明涉及PDE10A受体靶向型正电子药物^[18F]P10A-1910的研制与应用,^[18F]P10A-1910

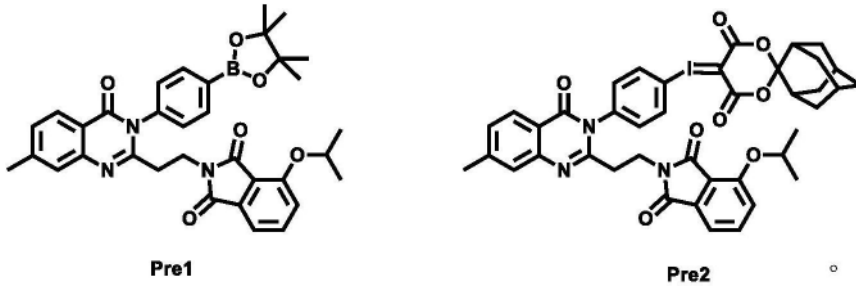


Pre1或Pre2与氟-18负离子于有机溶剂中反应得到^[18F]P10A-1910;Pre1、Pre2的结构如下:





10. 一种制备权利要求1所述的 $[^{18}\text{F}]$ P10A-1910的标记前体,其特征在于所述标记前体具有Pre1、Pre2所示结构:



11. 权利要求1所述的 $[^{18}\text{F}]$ P10A-1910、其立体异构体、互变异构体或其药学上可接受的盐中的一种或几种在制备诊断和/或治疗神经相关疾病的药物中的应用,所述神经相关疾病选自精神分裂症、帕金森病(PD)、亨廷顿氏病(HD)、癫痫。

12. 一种用于诊断和/或治疗神经相关疾病的药物,其特征在于该药物以权利要求1所述的 $[^{18}\text{F}]$ P10A-1910、其立体异构体、互变异构体或其药学上可接受的盐中的一种或几种作为有效成分。

PDE10A受体靶向型正电子药物^[18F]P10A-1910的研制与应用

技术领域

[0001] 本发明属于正电子药物领域,涉及PDE10A受体靶向型正电子药物^[18F]P10A-1910的研制与应用,具体涉及该放射性药物及相关标记前体的制备合成方法,以及活体动物神经显像。

背景技术

[0002] 磷酸二酯酶(phosphodiesterase,PDEs)是由21个基因编码的多基因大家族,广泛分布于中枢神经系统和外周神经等部位。通过水解作用,该类酶家族可以降低环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate,cAMP)和环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate,cGMP)的细胞内代谢水平。PDE家族的11个亚科可以依照对cAMP和cGMP的不同选择性分为三大类:1)cAMP特异性PDEs,如PED4、7和8;2)cGMP特异性PDEs,如PDE5、6和9;3)cAMP和cGMP双重特异性的PDEs,如PDE1、2、3、10和11。cAMP和cGMP是普遍存在于神经元细胞中可影响其可塑性的第二信使,通常情况下神经元细胞被激活后,细胞内cAMP和cGMP水平增多,而PDEs酶通过水解cAMP和cGMP抑制相关信号传导,进而影响细胞内相关信号传递级联反应,包括神经传递、新陈代谢、平滑肌收缩、嗅觉、味觉和视觉的形成以及基因活化等等。这些信号级联反应对突触中的基因表达和长时程增强作用(long-term potentiation,LTP)产生作用,进而影响突触的结构和功能,对学习和记忆相关的生理活动造成影响。因此,开发靶向PDEs的抑制剂对治疗多种神经退行性疾病如帕金森氏病(Parkinson's disease,PD),阿尔茨海默症(Alzheimer disease,AD)和亨廷顿病(Huntington's disease,HD)以及精神类疾病有着重要意义。

[0003] PDE10A在中枢神经系统和外周神经均有分布,其中在脑部纹状体有着高表达,而纹状体之外的大脑区域,如海马、小脑、脑干和皮层,显示出PDE10A独特的核分布。细胞水平上,主要存在于中型多棘神经元(Medium Spiny Neuron,MSN)的胞体、树突和轴突中,但mRNA的表达主要局限于胞体中。人类体内含有两种PDE10A的亚型分布PDE10A1和PDE10A2,其中PDE10A2更多;而小鼠体内PDE10A2和PDE10A3为主要的两种亚型。PDE10A对cAMP和cGMP同时具有水解作用,通过水解cAMP和cGMP中3'位的酯键,使之开环形成5'位的磷酸腺苷,从而失活,信号传输终止。PDE10A对cAMP更加敏感(K_m :cAMP 0.26 μ M,cGMP 7.2 μ M),在PDE10A2独特的氮末端Cys11位点发生了不可逆的蛋白质棕榈化作用,增强了其与细胞膜的结合能力以及向树突的转运。而PDE10A2的Thr16包含一个特殊的cAMP蛋白激酶A(protein kinase A,PKA)磷脂化位点,在发生磷脂化作用后会干扰Cys11的蛋白质棕榈化作用并阻止该酶的膜转位。因此,当细胞内进行蛋白质合成时,胞内的cAMP浓度严格控制着PDE10A2的定位,从而通过影响PKA的活化程度来产生cAMP水平的梯度区分。另外,cAMP通过PKA激活cAMP反应元件结合蛋白(cAMP response element-binding protein,CREB)信号,从而调节与突触可塑性相关基因的转录,如脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor,BDNF),对记忆功能产生影响。在对HD患者的大脑样本和相应小鼠模型中都检测到了cAMP水平的降低,并且在发生运动障碍症状之前,HD病人和模型小鼠体内的PDE10A的mRNA和蛋白

质水平都发生了下降,且下降程度疾病严重程度相关。有研究认为这是一种代偿机制,以减少PDE10A的数量来抑制cAMP的水解作用,以维持cAMP在体内的水平。目前,PDE10A的抑制剂和PET探针已经广泛地应用于HD的临床诊断和相应病理机制的探究。通过PET探针实现的PET显像,可以实时收集人类和动物体内PDE10A的分布和定量数据,对研究PDE10A相关的神经退行性疾病有着重要意义。

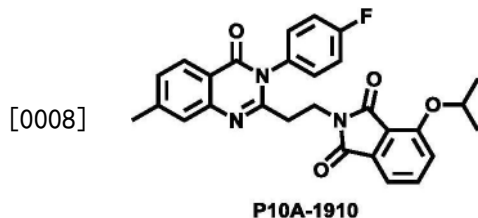
[0004] 近年来也有着越来越多的制药公司在开发PDE10A抑制剂,期望找到治疗基底神经节的宫能障碍症,包括帕金森病、亨廷顿病、精神分裂症、成瘾症、强迫症等的新的方法。

发明内容

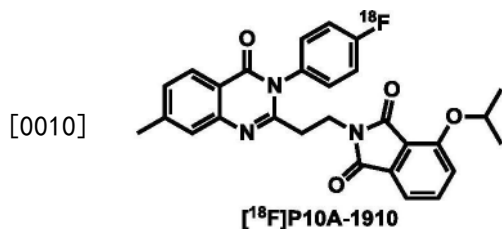
[0005] 本发明要解决的技术问题是提供一种新型的靶向PDE10A的放射性氟-18标记药物 $[^{18}\text{F}]$ P10A-1910及其合成方法,其中分别包括两类标记前体Pre1和Pre2,以及探针 $[^{18}\text{F}]$ P10A-1910的有机化学合成及放射化学合成方法。通过该两种前体/方法合成的探针放射化学产率高、稳定性好,易于自动化合成的转化。 $[^{18}\text{F}]$ P10A-1910过脑量大、代谢稳定性好、体内特异性优异,对实现PDE10A的PET影像定量分析有着重要意义。本专利为解决现有PDE10A放射性探针 $[^{18}\text{F}]$ MNI-659在体内不稳定的问题,设计了新型芳基氟苯并咪唑衍生物结构的探针 $[^{18}\text{F}]$ P10A-1910,并合成了频那醇前体Pre1和螺环高价碘叶丽德前体Pre2,通过有效的放射性 ^{18}F 标记手段,两种方法均高产率合成了新型PDE10A靶向型放射性药物 $[^{18}\text{F}]$ P10A-1910。

[0006] 为达到上述目的,本发明采用以下技术方案:

[0007] 本发明提供一种P10A-1910结构的化合物、其立体异构体、互变异构体或其药学上可接受的盐,其特征在于P10A-1910结构如下:



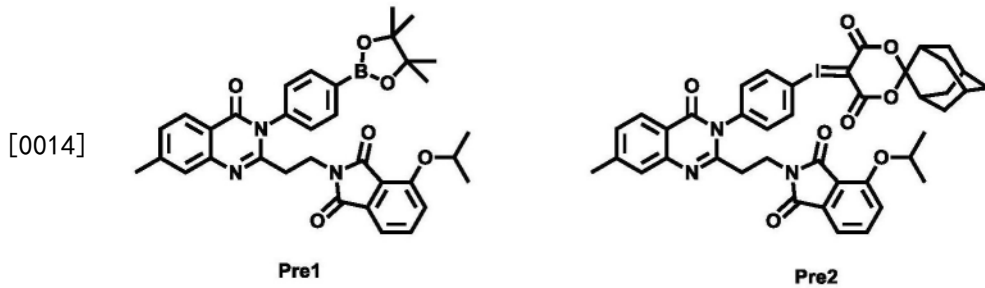
[0009] 本发明的另一实施方案提供 $[^{18}\text{F}]$ P10A-1910结构的化合物、其立体异构体、互变异构体或其药学上可接受的盐,其特征在于 $[^{18}\text{F}]$ P10A-1910结构如下:



[0011] 本发明的另一实施方案提供 $[^{18}\text{F}]$ P10A-1910的正电子药物的制备方法,其特征在于包括如下步骤:

[0012] 标记前体化合物与氟-18负离子于有机溶剂中反应得到 $[^{18}\text{F}]$ P10A-1910;

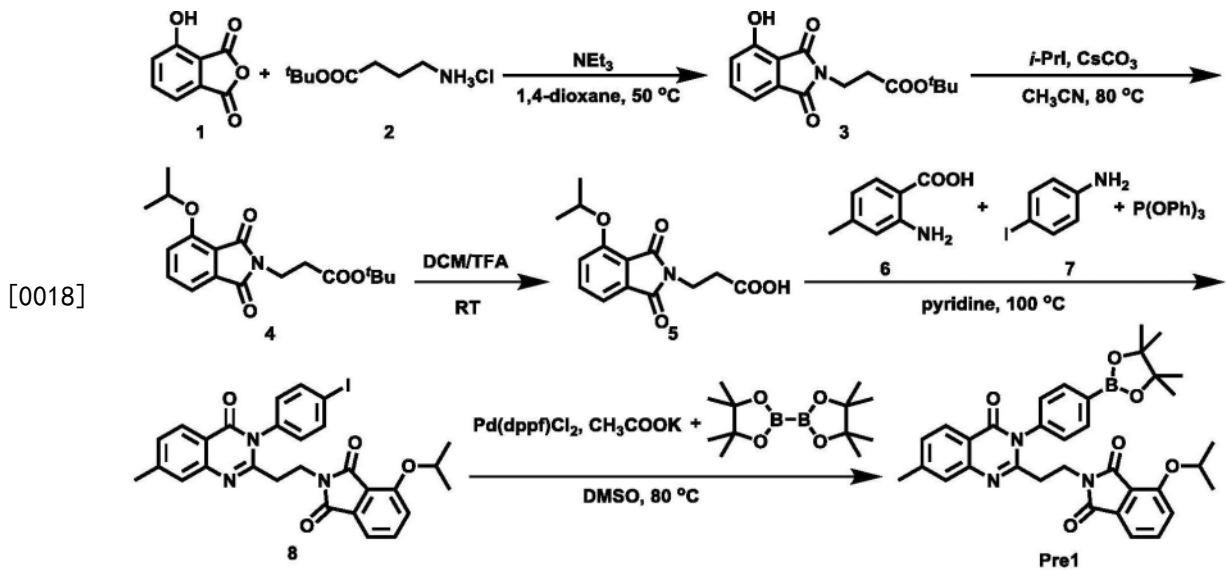
[0013] 其中标记前体化合物选自:Pre1或Pre2中的一种,Pre1、Pre2的结构如下:



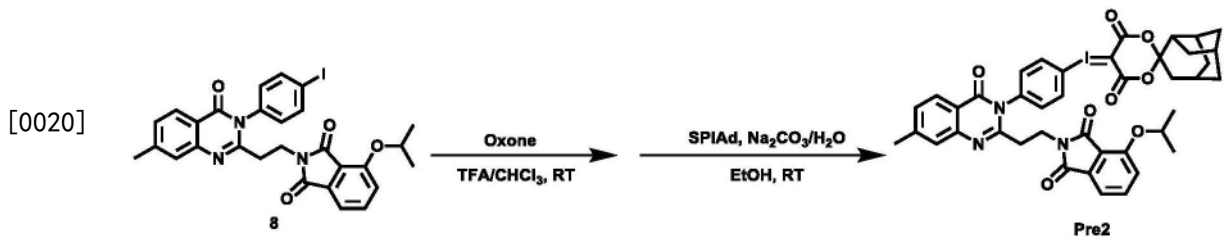
[0015] 有机溶剂选自DMAc (N,N-二甲基乙酰胺)、t-BuOH叔丁醇中的一种或两种混合(优选DMAc:t-BuOH=2:1体积比)；

[0016] 上述反应优选在100-150℃下进行,优选120℃、140℃;上述反应任选加入Cu(OTf)₂(pyridine)₄。

[0017] 本发明的另一实施方案提供^[18F]P10A-1910的正电子药物的制备方法,其特征在于还包括Pre1的制备步骤:

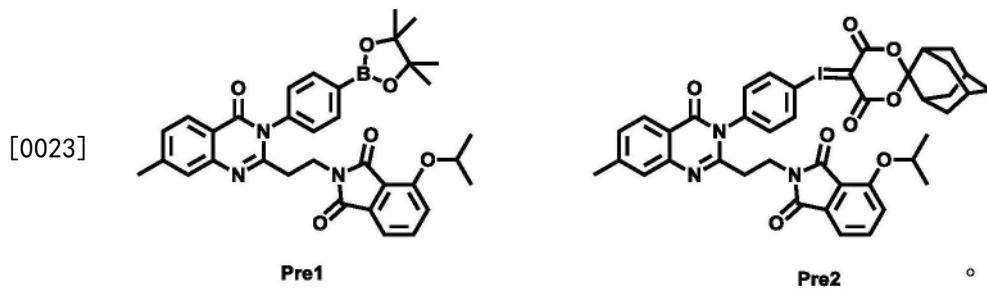


[0019] 本发明的另一实施方案提供^[18F]P10A-1910的正电子药物的制备方法,其特征在于还包括Pre2的制备步骤:



[0021] 其中化合物8的制备步骤如前所述。

[0022] 本发明的另一实施方案提供一种制备^[18F]P10A-1910的标记前体,其特征在于所述标记前体具有Pre1、Pre2所示结构:



[0024] 本发明的另一实施方案提供上述P10A-1910、 ^{18}F P10A-1910、其立体异构体、互变异构体或其药学上可接受的盐中的一种或几种在制备诊断和/或治疗神经相关疾病的药物中的应用。所述神经相关疾病选自精神分裂症、帕金森病(PD)、亨廷顿氏病(HD)、癫痫等。

[0025] 本发明的另一实施方案提供一种用于诊断和/或治疗神经相关疾病的药物,其特征在于该药物以P10A-1910、 ^{18}F P10A-1910、其立体异构体、互变异构体或其药学上可接受的盐中的一种或几种作为有效成分。

[0026] 本发明所述氟-18负离子优选来源于: ^{18}F -氟化物或 ^{18}F -标记的合成子,优选 ^{18}F KF/K222或 ^{18}F Et₄NF, ^{18}F -氟化物通过 ^{18}O (p,n) ^{18}F 核反应的水溶液获得。为了增加反应性且避免由水的存在产生的羟基化副产物,在该反应之前通常从 ^{18}F -氟化物中除去水,且氟化反应使用无水反应溶剂进行(Aigbirhio等,1995,J Fluor Chem;70:279-87)。自 ^{18}F -氟化物除去水称为制备“纯(naked)” ^{18}F -氟化物。改善上述用于放射性氟化反应的 ^{18}F -氟化物的反应性的另一步骤是在除去水之前加入阳离子反荷离子,合适地所述反荷离子在无水反应溶剂内应当具有足够溶解性以保持 ^{18}F 的溶解性。因此,通常使用的反荷离子包括诸如铷或铯的大但软的金属离子、与诸如KryptofixTM的穴状配体络合的钾、或四烷基铵盐(如四乙基碳酸氢铵),其中优选与诸如KryptofixTM的穴状配体络合的钾或四烷基铵盐(如四乙基碳酸氢铵)。

[0027] 与现有技术相比,本发明的有益效果:目前PDE10A的靶向型正电子药物多数存在体内不稳定、过脑量不高、靶向性不好的问题。本专利开发的药物 ^{18}F P10A-1910能有效解决以上问题,同时开发了两种合成方法,便于各机构通过手动或自动化合成设备完成合成,供临床使用,对中枢神经系统疾病的研究和诊断具有重大意义。

附图说明

[0028] 图1是实施例4产物的HPLC图;

[0029] 图2是实施例5产物的HPLC图;

[0030] 图3是放射性产物纯度检测图;

[0031] 图4是放射性产物 ^{18}F P10A-1910与标准化合物P10A-1910的一致性检测图;

[0032] 图5是标准曲线图;

[0033] 图6是放射性药物 ^{18}F P10A-1910注射后的1、5、15、30、60min在小鼠体内各器官的分布图;

[0034] 图7是放射性药物 ^{18}F P10A-1910在大鼠体内注射后30min和60min血、脑中的分布图;

[0035] 图8是恒河猴脑部放射性药物研究图。

具体实施方式

[0036] 下面结合附图对本发明作进一步描述。

[0037] 一、化合物合成方法

[0038] 实施例1标记前体Pre1的合成

[0039] 标记前体Pre1的合成路线可参考Nucl.Med.Biol.2017,55,12-18.,如下:

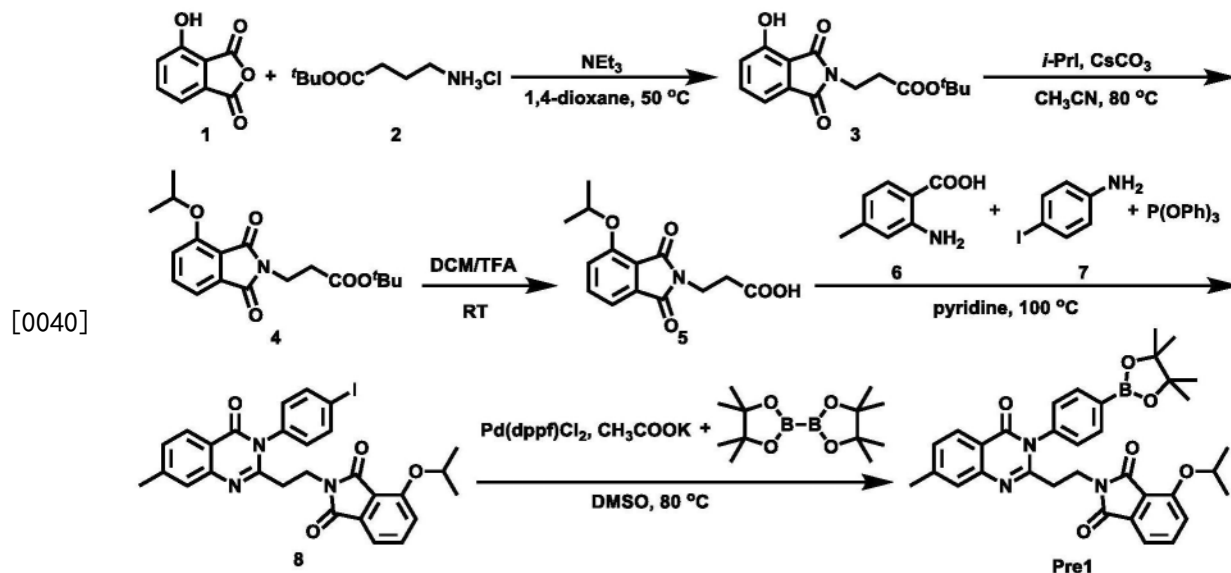


图1 标记前体 Pre1 合成途径

[0041] 从原料化合物3-羟基苯二甲酸酐1 (4.9g, 30mmol) 出发,以三乙胺 (90mmol) 为碱,在50℃的加热条件下,于1,4-二氧六环 (60mL) 溶剂中与化合物β-丙氨酸叔丁酯盐酸盐2 (33mmol) 反应过夜,反应结束后,加水猝灭反应,以乙酸乙酯萃取,旋干得白色固体3,产率33%,可直接进行下一步反应。化合物3的氢谱粗谱为¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 7.58-7.53 (m, 1H), 7.36 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.15 (d, J=8.4Hz, 1H), 3.89 (t, J=7.3Hz, 2H), 2.63 (t, J=7.3Hz, 2H), 1.40 (s, 9H)。

[0042] 以乙腈 (50mL) 为反应溶剂,在50℃的加热条件下,化合物3 (2.9g, 10mmol) 与2-碘代丙烷 (20mmol) 在Cs₂CO₃ (35mmol) 存在下反应4小时,反应体系冷却至室温,过滤旋干,快速柱层析分离得白色固体4,产率73%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 7.60 (dd, J=8.4, 7.3Hz, 1H), 7.40 (d, J=6.9Hz, 1H), 7.17 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.76 (hept, J=6.1Hz, 1H), 3.92-3.87 (m, 2H), 2.62 (t, J=7.4Hz, 2H), 1.44 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.40 (s, 9H)。

[0043] 室温下,化合物4 (1.7g, 5mmol) 溶解于二氯甲烷 (5mL) 中,滴加三氟乙酸 (5mL) 反应4小时,旋干得白色固体5,产率93%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 8.50 (brs, 1H), 7.61 (dd, J=8.4, 7.3Hz, 1H), 7.40 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.18 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.76 (hept, J=6.1Hz, 1H), 3.95 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.77 (t, J=7.4Hz, 2H), 1.44 (s, 2H), 1.43 (s, 2H)。

[0044] 以吡啶 (10mL) 为反应溶剂,在100℃的加热条件下,化合物5 (500mg, 0.8mmol)、亚磷酸三苯酯 (1.2mmol) 与2-氨基-4-甲基苯甲酸6 (0.8mmol) 反应4小时,随后冷却至室温,在氮气保护下,加入对氨基碘苯7 (0.88mmol) 在100℃的下反应4小时。反应结束后,冷却至室温,旋去溶剂吡啶,快速柱层析得到白色微黄固体8,产率47%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 8.12 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.85 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.59 (dd, J=8.4, 7.3Hz, 1H), 7.38-7.32 (m,

2H), 7.28-7.25 (m, 2H), 7.16 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.05 (d, J=8.5Hz, 2H), 4.70 (hept, J=6.1Hz, 1H), 4.10-4.04 (m, 2H), 2.69 (t, J=7.4Hz, 2H), 1.40 (s, 3H), 1.38 (s, 3H)。

[0045] 化合物8 (200mg, 0.3mmol) 在催化剂Pd (dppf)Cl₂ (0.009mmol) 与乙酸钾 (0.9mmol) 存在下, 与联硼酸频那醇酯 (0.33mmol) 与溶剂DMSO (5mL) 中在80℃的加热条件下反应过夜, 反应结束后, 加水猝灭反应, 乙酸乙酯萃取, 快速柱层析分离得白色固体Pre1, 产率82%。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ: 8.11 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.95 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.58-7.52 (m, 1H), 7.35-7.27 (m, 4H), 7.25-7.21 (m, 1H), 7.13 (d, J=8.5Hz, 1H), 4.67 (h, J=6.0Hz, 1H), 4.05 (t, J=7.3Hz, 2H), 2.67 (t, J=7.3Hz, 2H), 2.44 (s, 3H), 1.36 (d, J=6.1Hz, 6H), 1.33 (s, 12H)。HRMS (ESI): calcd for C₃₄H₃₇BN₃O₆ [M+H]⁺ 594.2770, found 594.2768。

[0046] 实施例2标记前体Pre2的合成

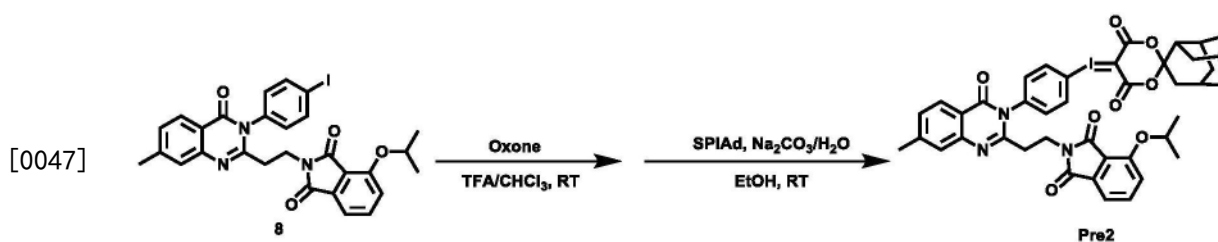
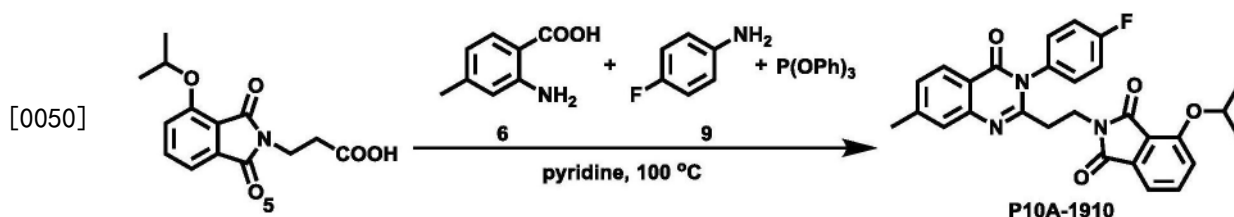


图2 标记前体 Pre2 合成途径

[0048] 化合物8 (120mg, 0.2mmol) 溶解于TFA (1.0mL) 和CHCl₃ (0.3mL) 中, 加入氧化剂oxone (184mg, 0.3mmol), 室温下反应1小时。反应结束后, 在减压状态下除去反应体系中溶剂。用乙醇 (5mL) 溶解所得固体, 加入以10%Na₂CO₃ (0.5mL) 水溶液溶解的SPIAd (95mg, 0.4mmol), 并继续以10%Na₂CO₃水溶液调节反应体系pH值至9, 室温下反应1小时。反应结束后, 加水猝灭反应, 二氯甲烷萃取, 快速柱层析分离得白色固体Pre2, 产率72%。¹H NMR (400MHz, DMSO) δ: 7.95 (t, J=8.6Hz, 3H), 7.70 (t, J=7.9Hz, 1H), 7.61 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.42 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.36-7.29 (m, 3H), 4.78 (p, J=5.8Hz, 1H), 3.89 (d, J=7.1Hz, 2H), 2.63 (t, J=7.3Hz, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.34 (s, 2H), 1.93 (d, J=12.1Hz, 4H), 1.76 (s, 2H), 1.64 (d, J=9.6Hz, 6H), 1.28 (s, 3H), 1.26 (s, 3H)。

[0049] 实施例3标准品抑制剂P10A-1910合成



[0051] 以吡啶 (10mL) 为反应溶剂, 在100℃的加热条件下, 化合物5 (500mg, 0.8mmol)、亚磷酸三苯酯 (1.2mmol) 与2-氨基-4-甲基苯甲酸6 (0.8mmol) 反应4小时, 随后冷却至室温, 在氮气保护下, 加入4-氟碘苯9 (0.88mmol) 在100℃的下反应4小时。反应结束后, 冷却至室温, 旋去溶剂吡啶, 快速柱层析得到白色固体P10A-1910, 产率48%。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 8.12 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.58 (dd, J=8.5, 7.3Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.35 (dd, J=7.3, 0.7Hz, 1H), 7.32-7.26 (m, 3H), 7.24-7.17 (m, 2H), 7.17-7.13 (m, 1H), 4.69 (hept, J=6.1Hz, 1H), 4.10-4.02 (m, 2H), 2.78 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.47 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.37 (s, 3H)。

[0052] 二、本发明中正电子药物 [¹⁸F]P10A-1910的制备方法

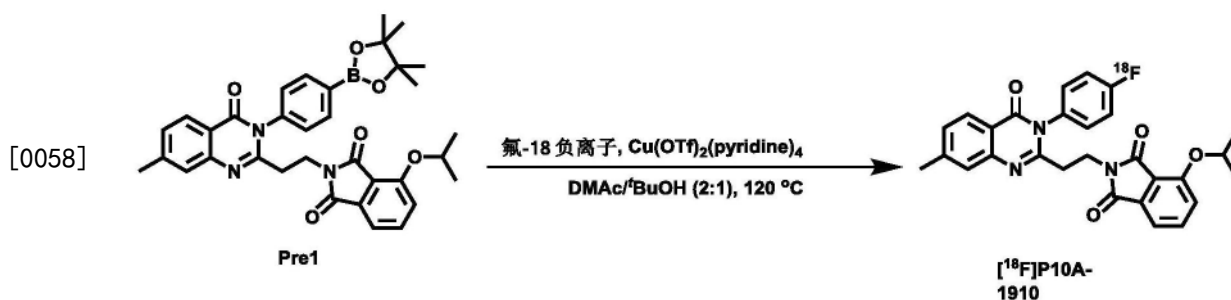
[0053] 实施例4基于Pre1的铜盐介导的¹⁸F标记

[0054] 1、氟-18负离子干燥方法

[0055] 氟-18负离子是在医用回旋加速器中以质子束流轰击H₂¹⁸O产生,通过管路传输至通风橱中。先以饱和碳酸氢钠水溶液(7.3%)活化Waters Sep-Pak light QMA固相萃取柱(天津德祥茂隆科技有限公司,WAT023525,SEP-PAK LIGHT QMA 50BX),再以其捕获并分离H₂¹⁸O中的氟-18负离子。以1mL注射器从配好的1mg/mL四乙基碳酸氢铵甲醇溶液中抽去1mL洗脱液,缓慢地以逐滴的方式对固相萃取柱进行洗脱,并将通过固相萃取柱的洗脱液收集至干净V型瓶中。

[0056] 将V形瓶置于110℃进行加热,同时以干燥氮气鼓吹,控制气流大小防止发生液体飞溅,10分钟后取下V形瓶并用冰水浴冷却至室温。

[0057] 2、氟-18负离子与标记前体化合物Pre1反应生成[¹⁸F]P10A-1910



[0059] 将标记前体化合物Pre1(5mg)与Cu(OTf)₂(pyridine)₄(3mg)溶解于0.3mL DMAC(N,N-二甲基乙酰胺)和叔丁醇的混合溶液(体积比为DMAC:tBuOH=2:1)中,随后加入到上述含有氟-18负离子的V形瓶中,空气氛围中在120℃加热条件下反应10分钟,随后将V形瓶取下,冰水浴冷却至室温。

[0060] 3、放射性产物HPLC分离纯化

[0061] 用水稀释上述反应液至有机相比比例低于20%,通过预活化(10mL乙醇溶剂通过固相萃取柱后,再以10mL水冲洗残留的乙醇溶剂并排空残留水)的Waters C-18固相萃取柱(Waters Sep-pak C18固相萃取小柱,产品编号WAT043395)分离其中有机物与溶剂、无机盐等。利用50mL水冲洗C-18柱子,去除无机盐及F-18离子,1mL乙腈洗脱C-18固相萃取柱并用水稀释至有机相比比例为50%,将其注入半制备放射性HPLC中。

[0062] 仪器:日本岛津高效液相色谱仪LC-16P

[0063] 检测器:日本岛津紫外检测器(SPD-16,λ=254nm)和放射性检测器共同检测。

[0064] 半制备色谱柱:OSAKA SODA CAPCELL PAK C18,5μm,10mm I.D.×250mm

[0065] 柱温:20℃

[0066] 流动相溶液:CH₃CN/H₂O=55/45

[0067] 流速:5毫升每分钟

[0068] 产物保留时间:24min(图1)

[0069] 实施例5基于Pre2的无金属介导¹⁸F标记

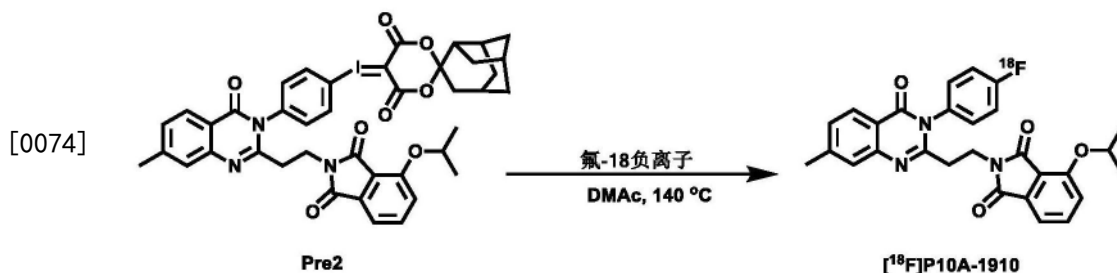
[0070] 1、氟-18负离子干燥方法

[0071] 氟-18负离子是在医用回旋加速器中以质子束流轰击H₂¹⁸O产生,通过管路传输至通风橱中。先以饱和碳酸氢钠水溶液(7.3%)活化Waters Sep-Pak light QMA固相萃取柱

(天津德祥茂隆科技有限公司, WAT023525, SEP-PAK LIGHT QMA 50BX), 再以其捕获并分离 $H_2^{18}O$ 中的氟-18 负离子。以 1mL 注射器从配好的 1mg/mL 四乙基碳酸氢铵甲醇溶液中抽去 1mL 洗脱液, 缓慢地以逐滴的方式对固相萃取柱进行洗脱, 并将通过固相萃取柱的洗脱液收集至干净 V 型瓶中。

[0072] 将 V 形瓶置于 110℃ 进行加热, 同时以干燥氮气鼓吹, 控制气流大小防止发生液体飞溅, 10 分钟后取下 V 形瓶并用冰水浴冷却至室温。

[0073] 2、氟-18 负离子与标记前体化合物 Pre2 反应生成 $[^{18}F]P10A-1910$



[0075] 将标记前体化合物 Pre2 (2mg) 溶解于 0.3mL DMAc (N,N-二甲基乙酰胺) 中, 随后加入到上述含有氟-18 负离子的 V 形瓶中, 在 140℃ 加热条件下反应 10 分钟, 随后将 V 形瓶取下, 冰水浴冷却至室温。

[0076] 3、放射性产物 HPLC 分离纯化

[0077] 用 HPLC 流动相乙腈和水稀释上述反应液至有机相比例低于 50%, 将其注入半制备放射性 HPLC 中。

[0078] 仪器: 日本岛津高效液相色谱仪 LC-16P

[0079] 检测器: 日本岛津紫外检测器 (SPD-16, $\lambda = 254\text{nm}$) 和放射性检测器共同检测。

[0080] 半制备色谱柱: Phenomenex Luna 5u C18 100A, 250 × 10mm

[0081] 柱温: 20℃

[0082] 流动相溶液: $CH_3CN/H_2O = 50/50$

[0083] 流速: 5 毫升每分钟

[0084] 产物保留时间: 31min (图 2)

[0085] (三) 放射性产物制剂化 (以上两种方法通用)

[0086] 用水将 HPLC 分离收集得到的产物有机相稀释至 20% 以下, 通过预活化的 C-18 固相萃取柱 (Waters Sep-pak C18 固相萃取小柱, 产品编号 WAT043395) 分离其中标记化合物。50mL 水洗 C18 固相萃取柱, 洗去其中残留的无机盐与氟-18 离子, 再以 2mL 乙腈通过 C-18 固相萃取柱, 洗脱产物至产品瓶中, 并在吹有干燥氮气的 90℃ 加热条件下干燥 (约 10min)。溶剂完全除去后, 将小瓶置于冰水浴中冷, 加入生理盐水 (含 5% DMSO, 5% tween 80), 配成不同放射性活度的制剂使用。

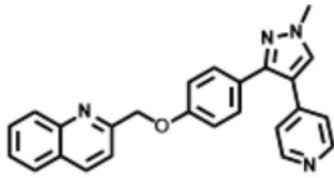
[0087] 基于 Pre1 的放射性反应结果: 全部反应时间大约为 90 分钟, 未校正合成产率为 30%, 比活度大于 99%。

[0088] 基于 Pre2 的放射性反应结果: 全部反应时间大约为 100 分钟, 未校正合成产率为 10%, 比活度大于 99%。

[0089] 实施例 6 放射性产物纯度检测

[0090] 仪器: 日本岛津高效液相色谱仪 LC-16P

- [0091] 检测器:日本岛津紫外检测器 (SPD-16, $\lambda=254\text{nm}$) 和放射性检测器共同检测。
- [0092] 分析型色谱柱:SHISEIDO CAPCELL PAK C18, $5\mu\text{m}$, $4.6\text{mm I.D.} \times 250\text{mm}$
- [0093] 柱温: 20°C
- [0094] 流动相溶液: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}=75/25$
- [0095] 流速: $1\text{mL}/\text{min}$
- [0096] 放射性产物与标准化合物保留时间: 7.55min (图3)
- [0097] (五) 产品一致性检测:
- [0098] 利用放射性产物 [^{18}F]P10A-1910 与标准化合物 P10A-1910 共进样检测
- [0099] 仪器:日本岛津高效液相色谱仪 LC-16P
- [0100] 检测器:日本岛津紫外检测器 (SPD-16, $\lambda=254\text{nm}$) 和放射性检测器共同检测。
- [0101] 分析型色谱柱:SHISEIDO CAPCELL PAK C18, $5\mu\text{m}$, $4.6\text{mm I.D.} \times 250\text{mm}$
- [0102] 柱温: 20°C
- [0103] 流动相溶液: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}=75/25$
- [0104] 流速: $1\text{mL}/\text{min}$
- [0105] 放射性产物与标准化合物保留时间: 7.50min (图4)
- [0106] (六) 比活度测试
- [0107] 利用 P10A-1910 的高效液相色谱出峰面积与注射量, 建立标准曲线, 如图5。
- [0108] 根据标准曲线, 计算方法一及方法二制备的放射性药物 [^{18}F]P10A-1910 比活度均大于 $1.2\text{Ci}/\mu\text{mol}$, 符合中枢神经系统 PET 药物的要求。
- [0109] 三、正电子药物 [^{18}F]P10A-1910 在啮齿类动物体内研究 (一) 小鼠体内分布
- [0110] 将放射性药物 [^{18}F]P10A-1910 注射入小鼠体内, 分别在注射后的 1min , 5min , 15min , 30min , 60min 进行解剖, 分离出器官, 称重, 然后利用伽马计数器测试每个器官的放射性计数, 得到如上药物体内分布图6。
- [0111] 结果显示, 该药物在脑、血中均有较迅速的洗脱, 并且体内稳定, 没有脱氟显像; 脑的最大摄取值超过 $5\% \text{ID}/\text{g}$, 进脑量丰富; 此外, 该探针是经由肾脏及肝/肠排出体内。
- [0112] (二) 大鼠体内稳定性
- [0113] 将放射性药物 [^{18}F]P10A-1910 注射入大鼠体内, 注射后 30min 和 60min 时间点解剖, 每个点3只。取血, 取脑。离心萃取得到放射性药物。通过放射性 HPLC 及伽马计数器测试, 得到该药物在脑中的稳定性很好, 60min 尚未发现明显代谢产物 (图7)。这对标准化定量靶点信息有重大意义。
- [0114] 四、正电子药物 [^{18}F]P10A-1910 在恒河猴脑内的动力学研究
- [0115] 利用两只恒河猴, 编号 R150093 和 R150079, 进行本底和抑制性实验, 研究该放射性药物在非人灵长类动物脑内的动力学及特异性 (图8)。
- [0116] 两只猴子的本底实验结果均显示, 该药物在纹状体位置有显著的聚集, SUV 高达3, 并呈现明显的洗脱; 小脑部位的放射量在血流作用下很快达到峰值, 然后进行快速洗脱, 基本接近本底。
- [0117] MP-10 是已知的 PDE10A 的高亲和力抑制剂, 在 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 剂量下, 有一定的抑制性影响, 改变了放射性药物在纹状体位置的动力学行为; 在 $1.5\text{mg}/\text{kg}$ 剂量下, 有非常明显的抑制作用, 信号降低了 80% 以上, 表明该药物的体内特异性非常好。MP-10 结构为:



PF-2545920 (MP-10)
PDE10A inhibitor

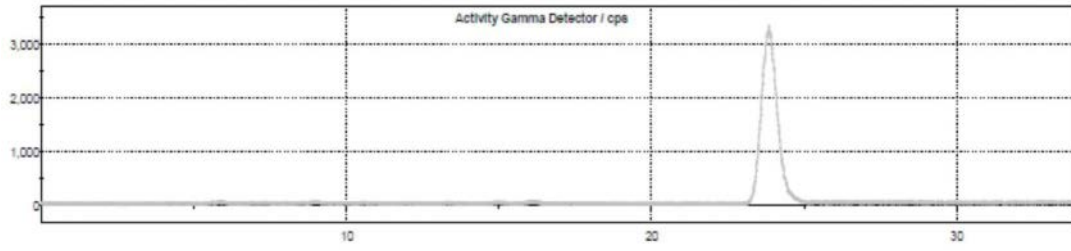


图1

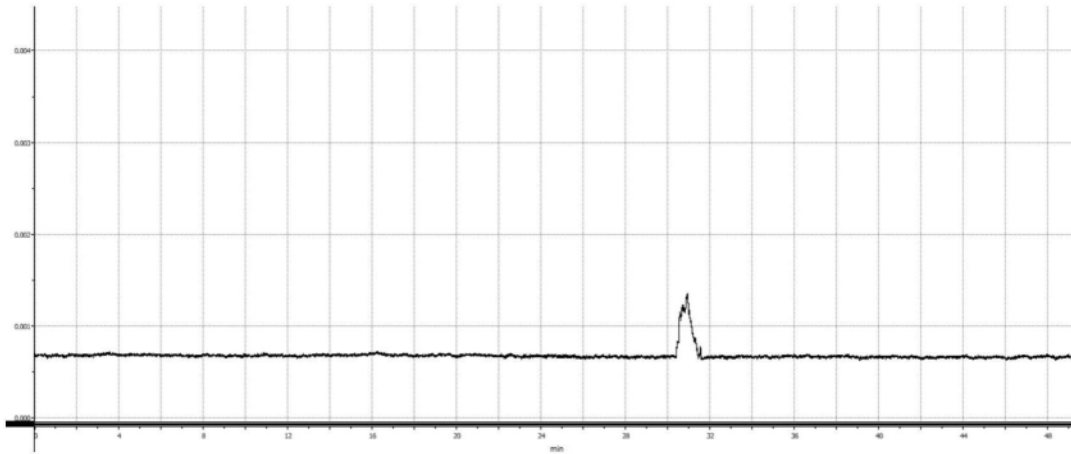


图2

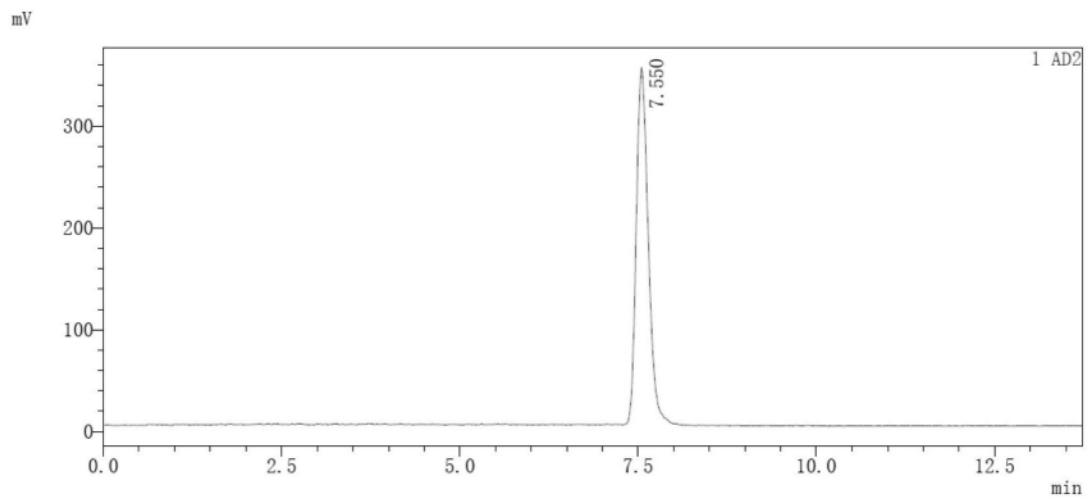


图3

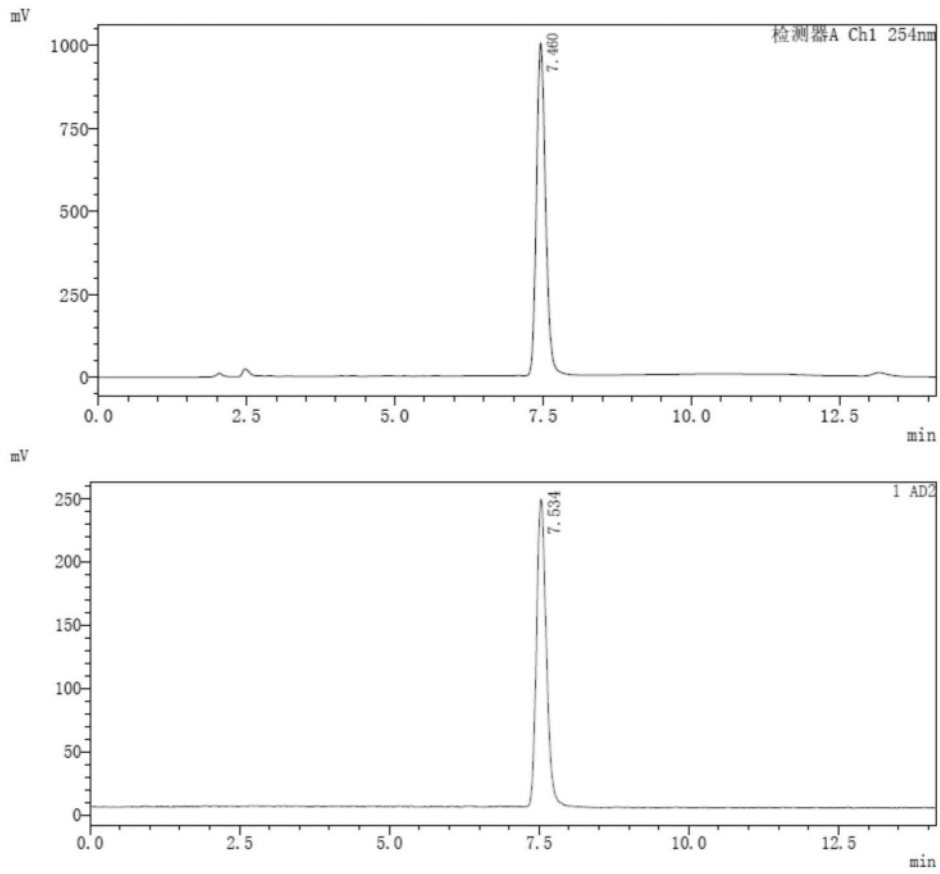


图4

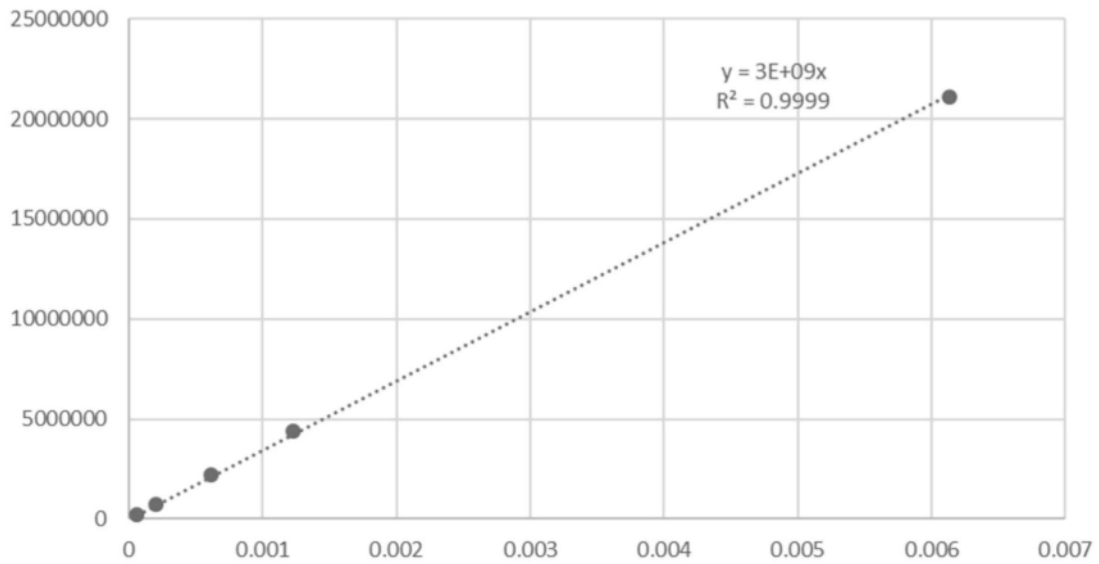


图5

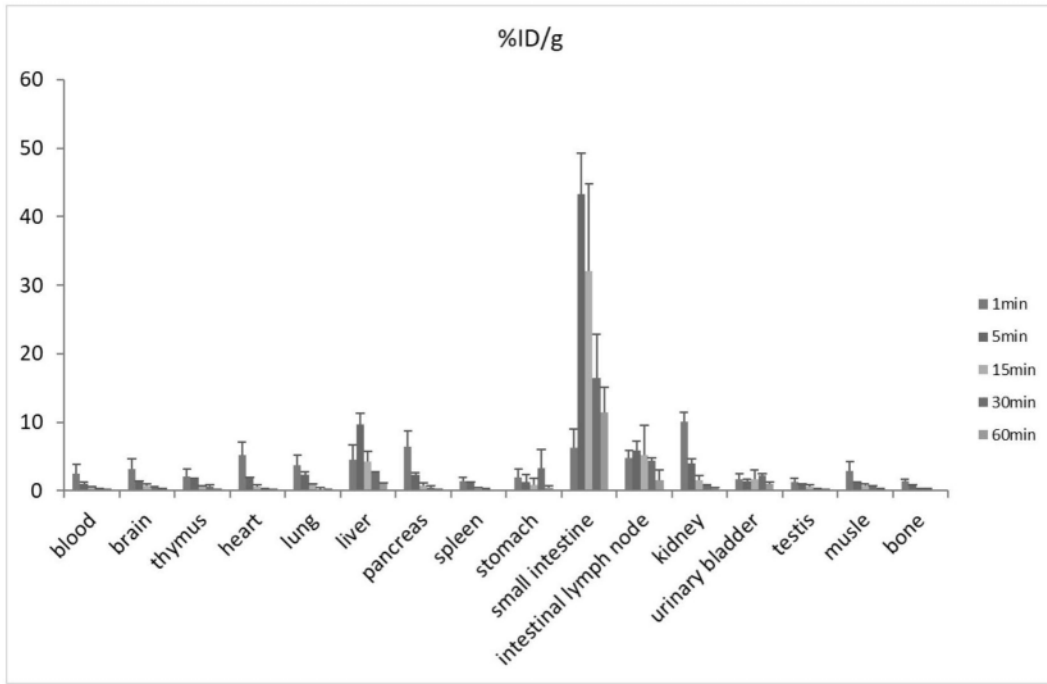


图6

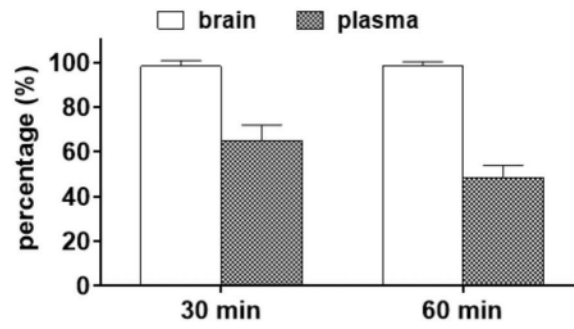


图7

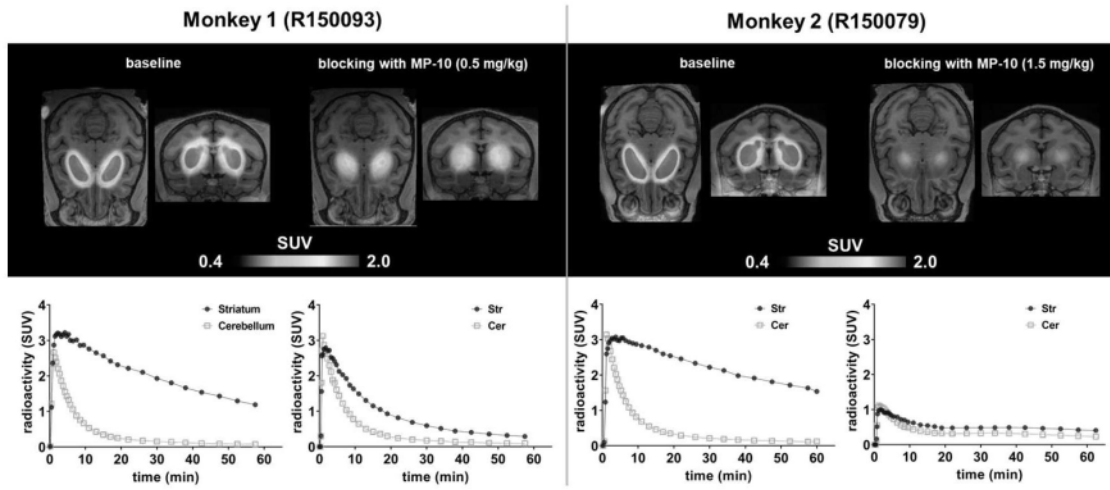


图8