

^{131}I -BIB 的合成与生物分布

陆春雄^{1,2}, 蒋泉福¹

(1. 江苏省原子医学研究所 卫生部核医学重点实验室, 江苏 无锡 214063;
2. 江南大学 化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 合成 1-三正丁基锡-2,5-二(4'-氨基)苯乙烯基苯(BIB), 并采用双氧水标记法对其进行 ^{131}I 标记, 得到标记物 ^{131}I -BIB; 将 ^{131}I -BIB注入 ICR 小鼠体内, 观察其生物分布。标记结果显示, 标记物 ^{131}I -BIB 的标记率 $>60\%$, 放化纯度 $>90\%$; ICR 小鼠体内分布实验表明, 注射后 30 min 时, ^{131}I -BIB 在脑中的摄取最高。 ^{131}I -BIB 作为髓磷脂显像剂有进一步研究的价值。

关键词: ^{131}I -BIB; 合成; 生物分布

中图分类号: R817 文献标志码: A 文章编号: 1000-7512(2009)04-0209-04

Synthesis and Biodistribution of ^{131}I -BIB

LU Chun-xiong^{1,2}, JIANG Quan-fu¹

(1. Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Key Laboratory of Nuclear Medicine,
Ministry of Health, Wuxi 214063, China;

2. School of Chemical & Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The synthesis and biodistribution of ^{131}I -1-iodo-2,5-bis(4'-amino)styrylbenzene (^{131}I -BIB) were reported. The chemical structure of the labeling precursor 1-tributylstannyl-2,5-bis(4'-amino)styrylbenzene and all its intermediates were verified by IR, ^1H NMR and MS respectively. The radioiodinated compound was prepared using iododestannylation reaction by hydrogen peroxide. Labeling yield was more than 60% and radiochemical purity was more than 90% determined by thin layer chromatography (TLC). The in vivo biodistribution of ^{131}I -BIB in ICR mice showed that the value of brain uptake was the highest in 30 min.

Key words: ^{131}I -BIB; synthesis; biodistribution

髓磷脂(Myelin)是以一种独特的结构围绕在神经细胞轴突外面的一层脂质,如同包绕电线的绝缘外皮,起保护和绝缘的作用。最近国外有学者研究发现^[1],髓磷脂涉及面很广,从精神分

裂症到阿尔茨海默病等一系列疾病都与其有关。髓磷脂的缺少或丢失会导致一种获得性或遗传性疾病,使神经纤维传导阻滞或传导失败,并伴随神经功能紊乱。在人类中枢系统中,多样硬化

收稿日期: 2009-02-09; 修回日期: 2009-07-08

基金项目: 江苏省卫生厅资助项目(H200624); 江苏省自然科学基金资助项目(BK2008111、BK2008112); 国家自然科学基金资助项目(30670714)

作者简介: 陆春雄(1975—),男,江苏无锡人,助理研究员,药物化学专业

症就属于脱髓磷脂疾病,在全世界范围内,发病率约百万分之二^[2]。脑蛋白质营养不良也会引起遗传性酶缺失,从而影响到中枢神经系统的蛋白质,导致髓磷脂外鞘的缺失或翻转^[3]。获得性髓磷脂紊乱和遗传性髓磷脂紊乱的预后都很差,甚至致残。

文献[4]报道的¹¹C标记1-甲氧基-2,5-二(4'-氨基)-苯乙烯基苯(BMB),是一种刚果红的衍生物,能在体外和体内选择性地与髓磷脂结合。在体内通过BMB与髓磷脂的结合来检测脱髓磷脂的部位。也有文献^[5]报道,苯乙烯基苯类衍生物对淀粉样斑块也有很好的结合。由于BMB是¹¹C标记的化合物,需要有加速器才能合成标记,而且¹¹C的半衰期很短,只有11 min,使其应用受到限制。本研究拟将BMB 1位的甲氧基替换成放射性碘,设计合成1-三正丁基锡-2,5-二(4'-氨基)苯乙烯基苯(BIB),用¹³¹I对其标记,并进一步考察其生物学特性,以探讨其作为髓磷脂显像剂的可能性。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

N-溴代丁二酰亚胺:纯度99%,国药集团化学试剂有限公司产品;亚磷酸三乙酯:纯度大于96%,姜堰市环球化工厂产品;SnCl₂·2H₂O:纯度大于98%,上海试剂四赫维化工有限公司产品;2-溴-对二甲苯(纯度97%),双三丁基锡(纯度97%)和钼化四三苯基膦(纯度99%):百灵威产品;Na¹³¹I(1.48 TBq/L):成都中核高通同位素股份有限公司产品;其他试剂均为国产分析纯。

实验动物:ICR小鼠,4~5周龄,清洁级,体重18~20 g,雌雄各半,扬州大学农学院提供,动物许可证书SCXK(苏)2007-0001。

Tensor 27 傅立叶红外分析仪和AM-400核磁共振仪:美国Bruker公司提供;ZMD-2000型质谱分析仪:美国Waters公司提供;C5002 γ计数器:美国PACKARD-COBRA公司提供;Yanadimoto熔点仪:日本株式会社提供,温度未校正。

1.2 BIB的合成

参照文献[4]中BMB的合成路线合成BIB。其合成路线示于图1。

1.2.1 1-溴-2,5-二溴甲基苯(1)的合成 取5.55 g(30 mmol)2-溴-对二甲苯溶于100 mL无水CCl₄,加10.68 g(60 mmol)N-溴代丁二酰亚胺(NBS)和少许过氧化苯甲酰(BPO),混合物在光照条件和氮气保护下,回流反应30 min,冷却至室温,沉淀过滤,所得滤液减压浓缩,剩余物用正己烷重结晶,得白色针状晶体(化合物1)。计算产率,测定熔点,用红外光谱(IR)和核磁共振(¹H NMR)表征结构。

1.2.2 2-溴-1,4-二(二乙基膦酸酯)二甲苯(2)的合成 在4.066 g(11.8 mmol)化合物1中加入4.1 mL(23.6 mmol)亚磷酸三乙酯(P(OEt)₃),加热至160 °C,搅拌回流6 h。冷却至室温,减压蒸去剩余溶剂,所得剩余物过硅胶柱,以V(CH₂Cl₂):V(CH₃OH)=95:5为洗脱剂,得无色油状物(化合物2)。计算产率,测定熔点,用IR和¹H NMR表征结构。

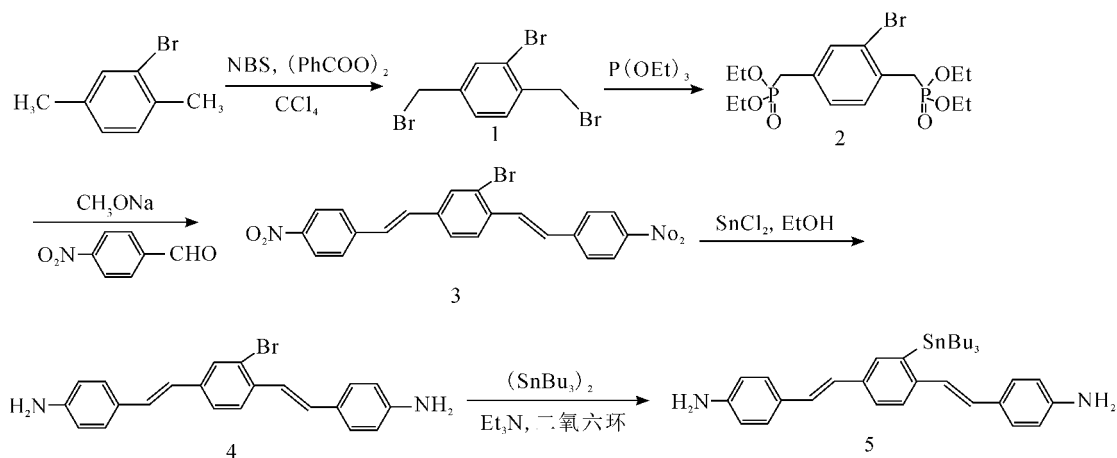


图1 BIB的合成路线

1——1-溴-2,5-二溴甲基苯;2——2-溴-1,4-二(二乙基膦酸酯)二甲苯;3——1-溴-2,5-二(4'-硝基)苯乙烯基苯;

4——1-溴-2,5-二(4'-氨基)苯乙烯基苯;5——1-三正丁基锡-2,5-二(4'-氨基)苯乙烯基苯(BIB)

1.2.3 1-溴-2,5-二(4'-硝基)苯乙烯基苯(化合物3)的合成 在通氮气条件下,将2.34 g(5.12 mmol)化合物2和1.55 g(10.26 mmol)对硝基苯甲醛溶于30 mL无水四氢呋喃中,于0℃滴加5 mL含25%甲醇钠的甲醇溶液,反应液搅拌回流过夜,蒸去溶剂,剩余物用乙醇洗涤,过滤,得砖红色固体(化合物3)。计算产率,测定熔点,用IR和¹H NMR表征结构。

1.2.4 1-溴-2,5-二(4'-氨基)苯乙烯基苯(化合物4)的合成 在通氮气条件下,将0.5 g(1.1 mmol)化合物3加入50 mL四氢呋喃中,于0℃滴加10 mL含2 g SnCl₂·2H₂O的稀盐酸溶液(SnCl₂过量),于80℃回流搅拌过夜,冷却至室温,减压蒸去四氢呋喃,加100 mL水,用100 mL乙酸乙酯萃取3次,合并有机层,用100 mL 2 mol/L NaOH溶液洗涤2次,再用饱和盐水洗涤,无水Na₂SO₄干燥,旋转蒸干,得黄色固体(化合物4)。计算产率,测定熔点,经IR和¹H NMR表征结构。

1.2.5 BIB(化合物5)的合成 取224 mg(0.573 mmol)化合物4,加入6 mL二氧六环和2 mL三乙胺,加2 mL双三丁基锡和40 mg(0.032 mmol)钼化四三苯基膦,混合物在密封瓶子中加热至100℃,反应40 h。减压蒸去溶剂,剩余物过硅胶柱,以V(正己烷):V(乙酸乙酯)=2:1为展开剂,得深红色油状物。计算产率,测定熔点,用IR和¹H NMR表征结构。

1.3 BIB的¹³¹I标记

标记方法参照文献[6]。取50 μg BIB,溶于50 μL乙醇,加入Na¹³¹I(25 μL,约37 MBq)和100 μL 1 mol/L HCl,置于密闭试管中,再加入100 μL H₂O₂(3%),在室温下放置10 min,加入150 μL饱和NaHSO₃溶液中止反应,反应液用约250 μL饱和NaHCO₃溶液调pH为7~8。用1 mL乙酸乙酯萃取3次。用TLC检测标记率和放化纯度,展开剂为V(乙醚):V(乙醇)=19:1。

1.4 标记物在小鼠体内的生物分布

取体重为18~20 g的ICR小鼠20只,尾静脉注射0.2 mL(约0.37 MBq)¹³¹I-BIB,分别于注射后5、30、60、120 min断颈处死,每个时相为5只小鼠。解剖取出脑、皮、肌肉、心、肝、脾和肺等脏器,称重后测量放射性计数。

2 结果和讨论

2.1 BIB的合成

化合物1~5的产量、产率及结构表征结果如下。

化合物1:产量为5.0 g,产率为48.6%,熔点为82~84℃。IR(cm⁻¹):3 030(苯环伸缩振动),2 900(亚甲基伸缩振动),1 598(苯环骨架振动),1 486(苯环骨架振动),1 433(亚甲基剪式振动);MS:339(M⁻);¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz)δ:7.65(d,1H),7.45(d,1H),7.35(dd,1H),4.60(s,2H),4.41(s,2H)。

化合物2:产量为4.07 g,产率为75.2%,IR(cm⁻¹):2 981(苯环伸缩振动),2 907(亚甲基伸缩振动),1 490(苯环骨架振动),1 392(亚甲基剪式振动);MS:457(M⁺),480(M+Na);¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz)δ:7.50(s,1H),7.39(dd,1H),7.20(d,1H),4.03(q,8H),3.35(d,2H),3.09(d,2H),1.28(t,12H)。

化合物3:产量为2.0 g,产率为86.6%,熔点大于250℃。IR(cm⁻¹):1 590(苯环骨架振动),1 512(硝基的伸缩振动),1 338(硝基的伸缩振动);MS:451(M⁺);¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz)δ:8.22(dd,4H),7.71(m,4H),7.60~7.50(m,2H),7.40~7.25(m,3H),7.11(dd,1H),6.90(dd,1H)。

化合物4:产量为0.3 g,产率为69.2%。IR(cm⁻¹):3 363(氨基的伸缩振动),1 605(苯环骨架振动),1 514(苯环骨架振动),1 275(碳氮键伸缩振动),1 177(碳氢键面内振动);MS:391(M⁺);¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz)δ:7.75(dd,2H),7.50(d,1H),7.30(dd,4H),7.15~7.05(m,3H),6.88(d,1H),6.55(d,4H),5.45(s,2H),5.35(s,2H)。

化合物5:产量为132 mg,产率为38.4%。IR(cm⁻¹):3 379(氨基的伸缩振动),2 960(烷基碳氢键伸缩振动),2 924(烷基碳氢键伸缩振动),1 608(苯环骨架振动),1 513(苯环骨架振动);MS:601(M⁺);¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz)δ:7.81(d,2H),7.50(d,1H),7.30~7.20(m,4H),7.05(d,3H),6.78(d,1H),6.45(d,4H),5.45(s,2H),5.35(s,2H),2.20~1.80(m,27H)。

5 步反应的总收率为 8.4%。其中第一反应对无水的要求较高,因为这是一步自由基参加的反应,若有水存在,产物很杂。参照文献[5],在生成化合物 5 反应中,仅用三乙胺作溶剂,化合物 4 不溶,反应也无法进行,必须加入二氧六环使化合物 4 部分溶解,反应才能进行。

2.2 ^{131}I -BIB 标记率和放化纯度

TLC 检测结果表明, $^{131}\text{I}^-$ 和 ^{131}I -BIB 的 R_f 分别为 0.1 和 0.95,由此计算得 ^{131}I -BIB 的标记率大于 60%,放化纯度大于 90%。

2.3 ^{131}I -BIB 在正常小鼠体内的生物分布

^{131}I -BIB 在正常小鼠体内生物分布结果列于表 1。由表 1 可知, ^{131}I -BIB 在脑中的摄取率在 30 min 时达最高,为 0.82%ID/g;30 min 时,肝、肺、脾和肾的放射性摄取率分别为 25.26、9.30、5.62 和 4.13%ID/g。此结果表明, ^{131}I -BIB 在脑中是有摄取的,值得进一步研究其与髓磷脂结合的强弱,同时也说明如果 ^{131}I -BIB 作全身显像,则在胸腔和腹腔将有较高的浓聚。

表 1 ^{131}I -BIB 在正常小鼠体内生物分布($\bar{x}\pm s, n=5$)

组织/器官	放射性摄取率/(%ID·g ⁻¹)			
	5 min	30 min	60 min	120 min
脑	0.38±0.05	0.82±0.05	0.74±0.16	0.66±0.14
皮	0.87±0.26	1.39±0.27	1.54±0.27	1.48±0.28
肌肉	0.85±0.17	1.13±0.19	1.16±0.22	0.65±0.08
心	3.60±0.52	2.92±0.41	2.77±1.12	1.18±0.28
肝	27.16±2.71	25.26±2.03	21.63±8.06	20.86±2.73
脾	5.97±2.37	5.62±1.62	5.98±2.58	5.05±0.74
肺	10.09±1.63	9.30±1.53	4.67±1.26	9.26±1.95
肾	4.02±0.47	4.13±0.34	3.31±0.48	1.83±0.47
血	0.52±0.06	0.38±0.06	0.46±0.19	0.29±0.02

3 结 论

合成标记前体 1-三正丁基锡-2,5-二(4'-氨基)苯乙烯基苯的总收率为 8.4%, ^{131}I -BIB 的标记率>60%,放化纯度>90%,在正常小鼠脑中有一定的放射性摄取。 ^{131}I -BIB 与髓磷脂的结合值得进一步研究。

参考文献:

[1] Bartzokis G. Age-related myelin breakdown: a developmental model of cognitive decline and Alzheimer's disease[J]. *Neurobiology of Aging*, 2004, 25(1): 5-18.

[2] Compston A, Coles A. Multiple sclerosis[J]. *Lancet*, 2002, 359: 1 221-1 231.

[3] Cheon JE, Kim Io, Hwang YS, et al. Leukodystrophy in children: a pictorial review of MR imaging features [J]. *Radiographics*, 2002 (22): 461-476.

[4] Bruno S, Yanming W, Michel B, et al. Imaging of CNS myelin by positron emission tomography[J]. *PNAS*, 2006, 103(24): 9 304-9 309.

[5] Zhuang ZP, Kung MP, Hou DM, et al. Radioiodinated styrylbenzenes and thioflavins as probes for amyloid aggregates[J]. *J Med Chem*, 2001, (44): 1 905-1 914.

[6] 陆春雄, 蒋泉福, 吴春英, 等. A β 斑块显像剂 3'- ^{131}I -PIB 的合成与生物分布[J]. *核化学与放射化学*, 2008, 30(3): 162-166.