

## ·实验核医学·

影响 PET 放射性药物  $^{11}\text{C}$  甲基化的因素

张锦明 田嘉禾 刘伯里

【摘要】 $^{11}\text{C}$  甲基化是 PET 放射性药物合成重要方法之一, 包括 C-N、C-O、C-S 甲基化等。影响  $^{11}\text{C}$  甲基化的因素有: 甲基化试剂、进攻试剂碱性、溶剂极性和空间位阻等。当化合物上有 2 个以上进攻原子时, 可通过调整甲基化试剂或溶剂的极性, 使其中 1 个进攻原子的甲基化成为主要反应。

【关键词】 碳放射性同位素; 甲基化; 体层摄影术, 发射型计算机; 药物设计

【中图分类号】 R817.9<sup>+</sup>2 【文献标识码】 A 【文章编号】 1673-4114(2006)05-0271-04

**Influence factor on  $^{11}\text{C}$  methylation in PET radiopharmaceuticals.**ZHANG Jing-ming<sup>1</sup>, TIAN Jia-he<sup>1</sup>, LIU Bo-li<sup>2</sup>

(1. Department of Nuclear Medicine, The PLA General Hospital, Beijing 100853, China; 2. Department of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

【Abstract】  $^{11}\text{C}$  methylation was very important methods for synthesis of PET radiopharmaceuticals. It included C-N, C-O, C-S methylation and so on. There are many influence factors for  $^{11}\text{C}$  methylation, such as methylation agents, the base of reagents, the polarity of solvent, the obstruct of space. We can adjust the methylation agent or change solvent in order to make one reaction as main reaction when a compound had two activity atoms.

【Key words】 Carbon radioisotopes; Methylation; Tomography, emission-computed; Drug design

$^{11}\text{C}$  甲基化是放射性核素  $^{11}\text{C}$ -CH<sup>3</sup>- 基团标记到有机化合物中, 是 PET 放射性药物合成的重要手段之一。采用  $^{11}\text{C}$  甲基化的优点有:

(1)  $^{11}\text{C}$  为组成生命最基本元素  $^{12}\text{C}$  的放射性同位素,  $^{11}\text{C}$  的甲基化不改变化合物结构, 改变的仅是化合物中碳同位素的丰度, 可以保持标记物与目标化合物的物理、化学和生物学性质一致, 便于研究化合物的生物学分布。

(2)  $^{11}\text{C}$  的衰变方式为正电子放射性衰变, PET 放射性与周围电子湮没, 产生 2 个方向相反、能量均为 511 keV 光子。采用符合探测线路测量(PET 技术)这 2 个光子, 比常用直接测量方法空间分辨率好、灵敏度高, 且不受组织厚度影响, 所以 PET 比 SPECT 有更高的空间分辨率。

(3)  $^{11}\text{C}$  的半衰期短 ( $T_{1/2}=20$  min),  $^{11}\text{C}$  标记放射性药物可以在较短时间内重复给药, 研究不同生理、病理状态下示踪剂的分布。

最常见的  $^{11}\text{C}$  甲基化是采用化合物的烷基化,

即  $^{11}\text{C}$ -CH<sup>3</sup>- 标记到化合物上。目前 PET 放射性药物甲基化大部分为 C-N、C-O、C-S 甲基化<sup>[1-3]</sup>, 其原因之一是很多药物含有 C-N、C-O、C-S 键, 而含硫、氧和氮的化合物上的甲基相对容易离去及甲基化。大量的文献研究了各种化合物  $^{11}\text{C}$  甲基化, 其中包括 1 篇描述了同位素甲基化的文献综述<sup>[4]</sup>, 但至今没有系统研究  $^{11}\text{C}$  甲基化机理及影响甲基化 (C-N、C-O 等) 产率的因素的研究报道。

**1  $^{11}\text{C}$  甲基化中离去基团的影响**

在其他条件相同情况下, 被取代原子团离去能力的倾向越大, 甲基化反应速度越快。通常采用碘代甲烷 (CH<sub>3</sub>I) 作为被进攻试剂, 碘原子体积较大, 是一个较易离去的基团。碘代甲烷甲基化芳香化合物时效率低, 需提高反应温度和前体浓度。为提高甲基化产率, 可用更易离去的三氟甲基磺酰基 (trifluoromethylsulphonate, Triflate) 取代碘。 $^{11}\text{C}$ -Triflate-CH<sub>3</sub> 不但产率高, 而且使用的进攻试剂量少, 表 1 为不同离去基团的甲基化产率和反应条件比较, 从表 1 中可知, 使用易离去的基团 Triflate 替代碘, 明显提高了甲基化率, 并且降低了标记前体的用量。对  $^{11}\text{C}$

作者单位: 1. 100853 北京, 中国人民解放军总医院核医学科 (张锦明, 田嘉禾); 2. 100875, 北京师范大学化学系(刘伯里)

通讯作者: 刘伯里(E-mail: liuboli@bnu.edu.cn)

表1  $^{14}\text{C}\text{-CH}_3\text{I}$  和  $^{14}\text{C}\text{-Triflate-CH}_3$  甲基化比较

标记化合物	$^{14}\text{C}\text{-CH}_3\text{I}$			$^{14}\text{C}\text{-Triflate-CH}_3$			文献源
	前体量 (mg)	温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )	产率 (%*)	前体量 (mg)	温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )	产率 (%)	
$^{14}\text{C}$ -raclopride	2	80	30	0.1	25	55~65	[5, 6]
$^{14}\text{C}$ -SB-235753	1	50	17	1	-15	45	[7]
$^{14}\text{C}$ -Deprenyl	1		25~35	1	60	50~60	[8]
$^{14}\text{C}$ -CFT	1		50~60	0.15	60	70~80	[9]
$^{14}\text{C}$ -FLB457	2.2		40~50	0.3	25	80~90	[10]
$^{14}\text{C}$ -MDL100907	0.5		60~80	0.3	25	>95	[10]
$^{14}\text{C}$ -WAY-100635	1.0		85	0.3	25	90~95	[10]
$^{14}\text{C}$ -Verapamil	1.5	100	17.2	1.5	50	70.5	[11]
$^{14}\text{C}$ -6-OH-BTA	2	80	10~12	4	80	68	[12-14]

注: \* 为不校正合成产率。raclopride: 雷氯必利; SB-235753: 3- $^{14}\text{C}$ -甲基-(3-甲氧基-萘-2-(1-苄基-吡啶))-4-乙酸; Deprenyl: 异戊三烯苯; FLB457: 5-溴-N-[(2S)-1-乙基-2-吡咯基]甲基]-2,3-二甲氧基-苯甲酰胺; MDL100907: 1-[2-(4-氟苯)乙基]-[2,3-二甲氧基苯]-4-吡啶甲醇; WAY-100635: (N-(2-(4-(2-甲氧基-苯)-1-哌嗪)-乙基)-N-(2-吡啶)-环庚酰胺; Verapamil: 维拉帕米。

甲基化效率低的反应, 可选用大的  $^{14}\text{C}\text{-Triflate-CH}_3$  作甲基化试剂。但并非所有甲基化反应均可适用  $^{14}\text{C}\text{-Triflate-CH}_3$ , 因为  $^{14}\text{C}\text{-Triflate-CH}_3$  最适宜的反应溶剂为丙酮, 采用丙酮作溶剂的不足为: ① 部分前体不溶于丙酮; ② 丙酮易挥发, 需在低温下捕获  $^{14}\text{C}\text{-Triflate-CH}_3$ 。因此, 针对不同甲基化反应类型和前体的溶解度, 应选择不同的  $^{14}\text{C}$  甲基化试剂。

## 2 进攻试剂碱性影响

能与  $^{14}\text{C}\text{-CH}_3\text{I}$  反应的亲核试剂均有未共用电子对, 它们都有一定的碱性, 当亲核原子相同时, 其亲核性能大小的顺序与碱性的强弱一致。例如 C-N 反应, 脂肪胺上氮原子电子云受周围基团影响不大, C-N 甲基化产率高,  $^{14}\text{C}$ -胆碱的产率可达 80%, 而芳香胺上氮原子受苯环吸电子的作用, 氮的外周电子密度下降, 碱性减弱, C-N 甲基化产率低, 如  $^{14}\text{C}$ -苯并噻唑 ( $^{14}\text{C}$ -ben-zothiazole,  $^{14}\text{C}$ -BTA) 的甲基化为 5%<sup>[13]</sup>; 当亲核原子为氧原子时, 为提高氧原子亲核性, 在溶液中加入强碱, 使氧核成裸露核, 碱的强弱影响了氧原子的亲核性, 如  $^{14}\text{C}$ -Deprenyl 的标记时, 加入碱量不同, 标记率不一: 当碱与前体摩尔比在 0.5~3 倍时, 标记率为 15%, 摩尔比大于 5 后, 标记率可达 25%<sup>[8]</sup>; 同样,  $^{14}\text{C}$ -raclopride 标记时, 加入 NaOH 的标记率为 30%<sup>[9]</sup>。加入强碱 NaOH 可以将 raclopride 标记前体的用量从常规的 2~2.5 mg 降至 0.3~0.4 mg, 并得到相同的标记率<sup>[10]</sup>。

如果采用活性更高的  $^{14}\text{C}\text{-Triflate-CH}_3$  标记去甲肾上腺素衍生物(S,S)-2-( $\alpha$ -(2-甲氧基苯氧基)苄基)吗啡(MeNER)时可以省略碱, 因为此时氮原子和氧原子均可作进攻原子, 此时需要保护氨基, 以防止 C-N 副反应发生<sup>[17]</sup>。

当同一化合物上同时出现两个或两个以上不同的亲核原子时, 可发生多烷基化反应。在元素周期表中同一周期的元素所生成的同类型的亲核反应其亲核性的大小与碱性一致, 但不同类型的亲核试剂, 因元素周围基团的影响而不同。在化合物(R,S)-1-(2-氨基甲酰基-4-羟基)苯氧乙胺-3-[4-(1- $^{14}\text{C}$ -甲基-4-三氟甲基-2-咪唑)苯氧基]-丙醇(CGP20712A, 见图 1)的前体中, 2 种原子氮和氧均可作为亲核原子与碘代甲烷发生亲核反应, 2 位上的氧和 3、4、5 位上的氮均可发生甲基化反应, 其中以 4 位的 C-N 甲基化为主<sup>[18]</sup>。

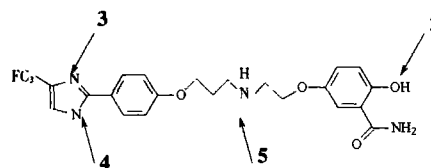


图1 CGP20712A

当一个化合物上存在多个可以甲基化的基团时, 可以通过以下 2 种方法达到目标甲基化: ① 控制反应试剂比例, 如合成冷 3-[1-(R)-[3-(4-甲氧基苯)-羟基-磷基-2-(S)-羟基-丙基-胺]乙基]苯甲酸(CGP62349, 见图 2)时, 存在 2 个亲核原子氮

和氧,当碘代甲烷与前体摩尔比为0.5时,主产品C-O甲基化与副反应C-N甲基化产品的摩尔比为3:1,降低碘代甲烷与前体的比例至0.2时,主产品比例升至95%,再降至0.1时,此时已没有C-N甲基化的产品, $^{11}\text{C}$ 标记时,由于碘代甲烷的量很少,因此C-O甲基化为主要产品<sup>[19]</sup>;②保护某一基团:如 $^{11}\text{C}$ -6-OH-BTA上有两个可以进攻的原子,可发生C-O和C-N甲基化:在二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)溶液中,首先发生C-O甲基化,标记效率为28%,若用甲氧基甲基保护氧原子,用碘代甲烷在DMSO的碱性条件下发生C-N甲基化,产率为15%<sup>[14]</sup>。

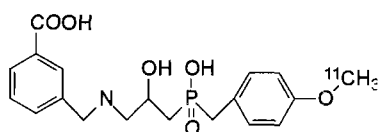


图2 CGP62349

因此,当一个前体上同时有两个或两个以上的亲核原子时,要优化标记条件,使目标甲基化反应发生,以降低副产品的出现。

### 3 溶剂对亲核性的影响

用于亲核反应的溶剂很多,大体可分为3类:①含质子的溶剂,与负离子形成强的氢键,如水、乙醇;②非质子的极性溶剂,分子中的氢与分子内原子结合牢固,如:二甲酰胺(dimethylformamide, DMF)、DMSO;③非极性溶剂,不给出质子,与溶质作用力弱,如丙酮等。在亲核反应中,亲核原子的亲核性受溶剂的影响,因此溶剂的选择很重要。在 $^{11}\text{C}$ 甲基化时,常采用后2种溶剂,即非质子极性溶剂和非极性溶剂。对 $^{11}\text{C}$ - $\text{CH}_3\text{I}$ 的C-O甲基化的反应,常在非质子极性溶剂DMF、DMSO中加入等量或过量碱进行<sup>[12, 20]</sup>,碱的存在使氧原子成裸露核,提高其亲核性,甲基化率为50%;用 $^{11}\text{C}$ -Triflate- $\text{CH}_3$ 作C-O甲基化反应时,常选择丙酮作溶剂,甲基化率为50%~90%<sup>[6, 17]</sup>;在中性条件下,C-O甲基化基本不进行<sup>[21]</sup>;也有在DMSO中进行甲基化,但产率不高。Wang等<sup>[22]</sup>报道了一个C-O甲基化的显像剂,用 $^{11}\text{C}$ - $\text{CH}_3\text{I}$ 在DMSO溶液中标记,加入 $\text{K}_2\text{CO}_3$ 作催化剂,但标记率仅为2.3%。

对于 $^{11}\text{C}$ - $\text{CH}_3\text{I}$ 的C-N甲基化反应,大多在DMF或DMSO中进行,甲基化率为20%~90%,用

游离胺时的甲基化率更高<sup>[11]</sup>。文献[23]比较了环胺在3种溶剂:DMSO、乙腈和三氯甲烷中 $^{11}\text{C}$ - $\text{CH}_3\text{I}$ 的烷基化率,DMSO中的甲基化产率最高,原因同C-O甲基化;用 $^{11}\text{C}$ -Triflate- $\text{CH}_3$ 甲基化时,由于胺本身为碱性,溶液中无需加碱,C-N甲基化产率很高,达60%~90%<sup>[16, 21]</sup>。

当一个化合物上存在多个可以烷基化的基团时,可以选择不同的溶剂,以改变氮、氧原子的亲核性,实现不同位置的标记。如 $^{11}\text{C}$ -6-OH-BTA上有2个可以进攻的原子,如果选择DMSO作溶剂,和碘代甲烷主要发生C-O甲基化<sup>[14]</sup>,但如果用丙酮和Triflate- $\text{CH}_3$ ,则无需保护氧原子,主要发生C-N甲基化反应,标记效率可达60%<sup>[12]</sup>。

### 4 空间位阻对亲核性的影响

当相同亲核原子在不同的化合物中时,由于位置不同,其亲核性不同。如胆碱的前体二甲基胺中的氮上有2个甲基,但它为脂肪胺,因此与 $^{11}\text{C}$ - $\text{CH}_3\text{I}$ 的反应产率很高,可达95%以上<sup>[24]</sup>。环胺中氮原子受一定空间位阻的影响,甲基化产率有所下降,为85%~90%。而当长链脂肪胺受芳香环影响时,由于苯环的位阻,甲基化明显下降,为43%<sup>[25]</sup>。当氮原子双侧均有芳香环时,其亲核性受到的影响更大,甲基化产率仅为17.2%<sup>[11]</sup>。当氮原子受芳香环和双键的影响时,即使用高活性的Triflate- $^{11}\text{C}$ - $\text{CH}_3$ 标记时,甲基化产率仅为0.5%<sup>[26]</sup>。因此在设计化合物的甲基化时,一定要考虑亲核原子受周围基团空间位阻影响。

研究影响甲基化率离去基团的因素、亲核试剂碱性大小、溶剂极性和亲核试剂空间位阻等因素,对 $^{11}\text{C}$ 甲基化有一定的指导意义。但是,由于每一种化合物结构的特殊性,也有个别例外,必须针对不同情况选择合适的溶剂、 $^{11}\text{C}$ 甲基化剂和碱性,以便达到最高的甲基化效率。

### 参 考 文 献

- 1 Tua Z, Dencea C, Ponde D, et al. Carbon-11 labeled r2 receptor ligands for imaging breast cancer. Nucl Med Biol, 2005, 32(5): 423-430.
- 2 Mading P, Zessin J, Plei U, et al. Synthesis of a  $^{11}\text{C}$ -labelled taxane derivative by [ $^{11}\text{C}$ ] acetylation. J Label Compd Radiopharm, 2006, 49(4): 357-365.
- 3 Zimme L, Fournet G, Joseph B, et al. Carbon-11 labelling of 8

- {[3-[4-(2-[<sup>11</sup>C] methoxyphenyl) piperazin-1-yl]-2-hydroxypropyl]oxy} thiochroman, a presynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist, and its in vivo evaluation in anaesthetised rat and in awake cat. *Nucl Med Biol*, 2003, 30(5): 541-546.
- 4 Bolton R. Isotopic methylation. *J Label Compd Radiopharm*, 2001, 44(10): 701-736.
  - 5 Iwata R, Pascalic C, Bogani A, et al. A simple loop method for the automated preparation of [<sup>11</sup>C] raclopride from [<sup>11</sup>C] methyl triflate. *Appl Radiat Isot*, 2001, 55(1): 17-22.
  - 6 Langer O, Nagren K, Dolle F, et al. Precursor synthesis and radiolabelling of the dopamine D<sub>2</sub> receptor ligand <sup>11</sup>C-raclopride from <sup>11</sup>C-methyl Triflate. *J Label Compd Radiopharm*, 1999, 42(12): 1183-1193.
  - 7 Matattese M, Soloviev D, Moresco RM, et al. Synthesis and vivo evaluation of 3-<sup>11</sup>C-methyl-(3-methoxy-naphthalen-2-yl)-(1-benzyl-piperidin)-4-yl-acetate (SB-235753), as a putative dopamine D<sub>4</sub> receptor antagonist for PET. *J Label Compd Radiopharm*, 2000, 43(4): 359.
  - 8 Dolle F, Bramoulle Y, Hinnen F, et al. Efficient synthesis and formulation of (R)-(-)- [<sup>11</sup>C] Deprenyl, a selective radioligand for the quantification of MAO-B activity using PET. *J Label Compd Radiopharm*, 2002, 45(10): 803-811.
  - 9 Nagren K, Muller L, Halldin C, et al. Improved synthesis of some commonly used PET radioligands by the use of <sup>11</sup>C-methyl triflate. *Nucl Med Biol*, 1995, 22(2): 235-239.
  - 10 Lundkvist C, Halldin C, Swahn CG, et al. Improved synthesis of the PET radioligands <sup>11</sup>C-FLB457, <sup>11</sup>C-MDL100907 and <sup>11</sup>C-CIT-FE by use of <sup>11</sup>C-methyl Triflate. *J Label Compd Radiopharm*, 1998, 41(6): 545-556.
  - 11 Luurtsema G, Windhorst AD, Martien PJ, et al. Fully automated high yield synthesis of (R)- and (S)-[<sup>11</sup>C]verapamil for measuring P-glycoprotein function with positron emission tomography. *J Label Compd Radiopharm*, 2002, 45(14): 1199-1207.
  - 12 Solbach C, Uebele M, Reisch G, et al. Efficient radiosynthesis of carbon-11 labelled uncharged thioflavin T derivatives using [<sup>11</sup>C] methyl triflate for β-amyloid imaging in Alzheimer's disease with PET. *Appl Radiat Isot*, 2005, 62(4): 591-595.
  - 13 Klunk W, Wang Y, Huang G, et al. Uncharged thioflavin-T derivatives bind to amyloid-beta protein with high affinity and readily enter the brain. *Life Sci*, 2001, 69(13): 1471-1484.
  - 14 Mathis CA, Wang Y, Holt DP, et al. Synthesis and evaluation of <sup>11</sup>C-labeled 6-substituted 2-arylbenzothiazoles as amyloid imaging agents. *J Med Chem*, 2003, 46(13): 2740-2754.
  - 15 Mathis CA, Bacskai BJ, Kajdasz ST, et al. A lipophilic Thioflavin-T derivative for positron emission tomograph (PET) imaging of amyloid in brain. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12(2): 295-298.
  - 16 Ishiwata K, Ishii S, Senda M. An alternative synthesis of [<sup>11</sup>C]raclopride for routine use. *Ann Nucl Med*, 1999, 13(3): 195-197.
  - 17 Schou M, Halldin C, Sövägo J, et al. Specific in vivo binding to the norepinephrine transporter demonstrated with the PET radioligand, (S,S)-[<sup>11</sup>C] MeNER. *Nucl Med Biol*, 2003, 30(7): 707-714.
  - 18 Elisinga PH, Van Warde A, Visser GM, et al. Synthesis and preliminary evaluation of (R,S)-1-[2-((carbamoyl-4-hydroxy) phenoxy)-ethylamino]-3-[4-(1-[<sup>11</sup>C]-methyl-4-trifluoromethyl-2-imidazolyl)phenoxy]-2-propanol(<sup>11</sup>C-CGP20712A) as a selective β<sub>1</sub>-adrenoceptor ligand for PET. *Nucl Med Biol*, 1994, 21(2): 211-217.
  - 19 Todde S, Moresco RM, Frostl W, et al. Synthesis and in vivo evaluation of [(11) C] CGP62349, a new GABA (B) receptor antagonist. *Nucl Med Biol*, 2000, 27(6): 565-569.
  - 20 Kuhnast B, Bodenstern C, Wester HJ, et al. Carbon-11 labelling of an N-sulfonylamino acid derivative: a potential tracer for MMP-2 and MMP-9 imaging. *J Label Compd Radiopharm*, 2003, 46(6): 539-553.
  - 21 Wilson AA, Garcia A, Chestakova A, et al. A rapid one-step radiosynthesis of β-amyloid imaging radiotracer N-methyl-[<sup>11</sup>C] 2-(4'-methylaminophenyl)-6-hydroxy benzothiazolo[<sup>11</sup>C]-6-OH-BTA-1. *J Label Compd Radiopharm*, 2004, 47(10): 679-682.
  - 22 Wang YM, Mathis CA, Huang GF, et al. Synthesis and <sup>11</sup>C-labelling of (E, E)-1-(3',4'-dihydroxystyryl)-4-(3'-methoxy-4'-hydroxystyryl)benzene for PET imaging of amyloid deposits. *J Label Compd Radiopharm*, 2002, 45(8): 647-664.
  - 23 Bender D, Holschbach M, Stocklin G, et al. Synthesis of n.c.a carbon-11 labelled clozapine and its major metabolite clozapine-N-oxide and comparison of their biodistribution in mice. *Nucl Med Biol*, 1994, 21(7): 921-925.
  - 24 Zhang JM, Tian JH, Wang WS, et al. A new technique for labeling of <sup>11</sup>C-choline, a positron emitting tracer for tumor imaging. *J Radioanal Nucl Med*, 2006, 267(3): 665-668.
  - 25 Huang Y, Narendran R, Bae SA, et al. A PET imaging agent with fast kinetics: synthesis and in vivo evaluation of the serotonin transporter ligand [<sup>11</sup>C]2-(2-dimethylaminomethylphenylthio)-5-fluorophenylamine ([<sup>11</sup>C]AFA). *Nucl Med Biol*, 2004, 31(6): 727-738.
  - 26 Schweiger L, Craib S, Welch A, et al. Radiosynthesis of [N-methyl-<sup>11</sup>C] methylene blue. *J Label Compd Radiopharm*, 2003, 46(13): 1221-1228.

(收稿日期: 2006-02-11)