

## 2-氨基-二氢丁苯那嗪非对映异构体的分离及氟<sup>18</sup>F标记

刘春仪<sup>1</sup>, 方毅<sup>1</sup>, 李靓雯<sup>1,2</sup>, 李倩<sup>1</sup>, 陈正平<sup>1</sup>

(1. 国家卫生健康委员会核医学重点实验室, 江苏省分子核医学重点实验室,  
江苏省原子医学研究所, 无锡 214063;  
2. 南京医科大学药学院核药学系, 南京 211166)

**摘要** 基于新型VMAT2显像探针的开发需求, 本文聚焦于2-氨基-二氢丁苯那嗪(2-NH<sub>2</sub>-DTBZ)非对映异构体的分离技术及其氟<sup>18</sup>F标记方法开发, 以丁苯那嗪为起始原料, 通过Borch还原氨化反应合成2-NH<sub>2</sub>-DTBZ粗品, 继而采用柱层析分离技术实现了 $\alpha$ 型和 $\beta$ 型非对映异构体的有效分离, 并通过质谱(ESI-MS)及核磁共振波谱(<sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C NMR)进行了结构确证. 鉴于 $\alpha$ 型异构体潜在的生物活性优势, 建立两步一锅法策略实现了氟<sup>18</sup>F标记 $\alpha$ 型2-NH<sub>2</sub>-DTBZ. 经高效液相色谱分析证实, 所得放射性标记产物的放射化学纯度>99%. 进一步的体内实验结果表明, 该标记化合物具有穿透血脑屏障的能力, 为其在中枢神经系统显像应用提供了重要基础. 本研究构建的2-NH<sub>2</sub>-DTBZ非对映异构体有效分离体系及同位素标记方法, 为基于 $\alpha$ 型2-NH<sub>2</sub>-DTBZ分子骨架的新型脑内PET探针研发提供了关键技术支撑.

**关键词** 二氢丁苯那嗪; 非对映异构体; 囊泡单胺转运体; <sup>18</sup>F标记

中图分类号 O652.6; O658.1 文献标志码 A doi: 10.7503/cjcu20250172

## Diastereomers Separation and Fluorine-18 Labeling of 2-Amino-dihydrotrabenzine

LIU Chunyi<sup>1</sup>, FANG Yi<sup>1</sup>, LI Jingwen<sup>1,2</sup>, LI Qian<sup>1</sup>, CHEN Zhengping<sup>1\*</sup>

(1. National Health Commission Key Laboratory of Nuclear Medicine, Jiangsu Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Wuxi 214063, China;  
2. Department of Radiopharmaceuticals, School of Pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China)

**Abstract** Based on the demand for developing novel VMAT2 imaging probes, this study focuses on the synthesis and separation technology of 2-amino-dihydrotrabenzine (2-NH<sub>2</sub>-DTBZ) diastereomers and the development of fluorine-18 labeling methods. Starting from trabenzine as the raw material, the 2-NH<sub>2</sub>-DTBZ crude product was synthesized *via* Borch reductive amination, followed by the effective separation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -diastereomers using column chromatography. Structural confirmation was achieved through mass spectrometry (ESI-MS) and nuclear magnetic resonance spectroscopy (<sup>1</sup>H NMR/<sup>13</sup>C NMR). Given the potential biological activity advantages of the  $\alpha$ -diastereomer, a two-step one-pot strategy was established to achieve the <sup>18</sup>F labeling of  $\alpha$ -2-NH<sub>2</sub>-DTBZ. High-performance liquid chromatography analysis confirmed that the radiochemical purity of the labeled product

收稿日期: 2025-06-20. 网络首发日期: 2025-08-18.

联系人简介: 陈正平, 男, 博士, 研究员, 主要从事放射性药物与核医学基础方面的研究. E-mail: chenzhengping@jsinm.org

基金项目: 江苏省卫生健康委医学科科研项目(批准号: M2022047)、国家自然科学基金(批准号: 82172054, 82402427)和江苏省医学重点学科(实验室)基金项目(批准号: ZDXYS202211)资助.

Supported by the Research Foundation of Jiangsu Provincial Commission of Health, China(No.M2022047), the National Natural Science Foundation of China(Nos.82172054, 82402427) and the Foundation of Jiangsu Provincial Medical Key Discipline(Laboratory), China(No. ZDXYS202211).

was higher than 99%. Further *in vivo* experiments demonstrated that the labeled compound can penetrate the blood-brain barrier, providing a crucial foundation for its application in central nervous system imaging. The effective separation system for 2-NH<sub>2</sub>-DTBZ diastereomers and the <sup>18</sup>F labeling methodology established in this study offered a key technical support for the development of novel brain PET probes based on the  $\alpha$ -2-NH<sub>2</sub>-DTBZ scaffold.

**Keywords** Dihydropyridazine; Diastereomer; Vesicular monoamine transporter; <sup>18</sup>F-labeling

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种以运动功能障碍为主要特征的神经退行性疾病,其核心病理机制是中脑黑质多巴胺能神经元的渐行性退化<sup>[1,2]</sup>. 现今PD诊断很大程度上依赖临床表现,但早期PD患者症状不典型,存在一定的误诊率<sup>[3]</sup>. 因此,开发能够早期检测多巴胺能神经元退化的显像探针具有重要临床意义. 目前,针对PD的显像探针主要靶向多巴胺代谢通路中的关键靶点,包括芳香族氨基酸脱羧酶(AADC)、多巴胺转运体(DAT)和2型囊泡单胺转运体(Vesicular monoamine transporter 2, VMAT2)等<sup>[4]</sup>. 其中,VMAT2因其在囊泡储存单胺类递质中的核心作用,成为近年来的研究热点. VMAT2是一种位于突触囊泡膜上的转运蛋白,负责将细胞质中的单胺类神经递质(如多巴胺<sup>[5]</sup>、去甲肾上腺素和5-羟色胺)转运至囊泡内储存<sup>[6]</sup>. 在PD中,VMAT2的表达水平与多巴胺能神经元的存活状态密切相关,其减少直接反映神经元的退化程度<sup>[7]</sup>. 因此,VMAT2显像探针的开发不仅有助于PD的早期诊断,还可用于疾病进展监测和治疗效果评估<sup>[8]</sup>.

二氢丁苯那嗪(Dihydropyridazine, DTBZ)是VMAT2的高亲和力配体,已成功用于放射性显像探针的开发. 例如, [<sup>11</sup>C]DTBZ作为正电子发射断层扫描(PET)显像探针,能够特异性结合VMAT2<sup>[9-12]</sup>,但其短半衰期( $T_{1/2}=20$  min)限制了临床应用. 此后,研究焦点逐步转向长半衰期核素<sup>18</sup>F( $T_{1/2}=110$  min)标记DTBZ衍生物的开发,其中代表性示踪探针[<sup>18</sup>F]FP-DTBZ已经被证实是一种潜在的VMAT2显像探针<sup>[13-16]</sup>,安全性高,具有较高的脑初摄取、较快的脑清除及较高的靶/非靶比. 目前,<sup>11</sup>C与<sup>18</sup>F标记的DTBZ类显像探针存在标记前体化合物合成条件相对苛刻、实验操作相对繁琐等问题. 为解决此问题,研究人员将目光转向了DTBZ分子2-位氨基化衍生物(2-氨基-二氢丁苯那嗪)的合成与构效关系研究,这为开发新型VMAT2靶向显像探针提供了新的研究方向<sup>[17]</sup>. 二氢丁苯那嗪类化合物因存在多种异构体且生物活性差异显著,其异构体分离与纯化技术已成为该领域的必要研究内容<sup>[18,19]</sup>. 然而,当前针对2-氨基-二氢丁苯那嗪(2-NH<sub>2</sub>-DTBZ)的非对映异构体分离技术尚未解决,文献[20]报道的产物为混合非对映异构体形式. 本文旨在建立该化合物非对映异构体的分离技术方法,并初步探索了其氟[<sup>18</sup>F]标记策略,为开发基于该分子骨架的新型PET特异性探针提供了技术支撑.

## 1 实验部分

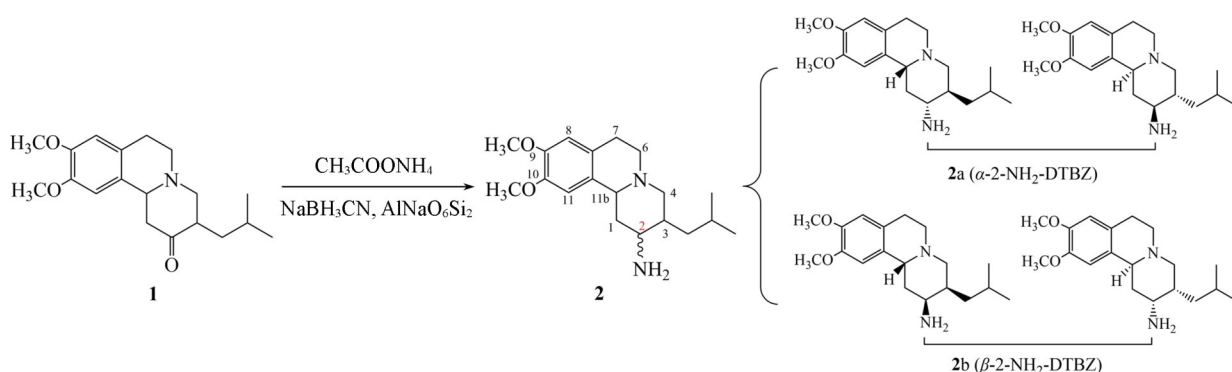
### 1.1 试剂与仪器

醋酸铵、碳酸铯、1,3-双(甲苯磺酰氧基)丙烷和碳酸钾,分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 氰基硼氢化钠和0.3 nm分子筛,分析纯,北京伊诺凯科技有限公司; 无水甲醇、1-溴-3-氟丙烷、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)和穴醚222(K<sub>222</sub>),分析纯,北京百灵威科技有限公司; 甲醇、乙腈和三氟乙酸(TFA),色谱纯,北京百灵威科技有限公司; 高效液相用水使用纯水机制备.

AVANCE III 400型核磁共振波谱仪(NMR),瑞士Bruker公司; SQ Detector 2型电子喷雾离子质谱仪(MS)、1525型高效液相色谱仪、1525 Plus半制备型高效液相色谱仪和2998型双通道紫外检测器,美国Waters公司; Gabi Nova型放射性检测器,德国Raytest公司; 玖源-7型医用回旋加速器,中国玖源源粒子科技有限公司; BioSpec 94/30 MRI&PET Insert型双模态小动物成像系统,美国Bruker公司.

### 1.2 2-氨基-二氢丁苯那嗪的合成与分离纯化

2-氨基-二氢丁苯那嗪的合成路线如Scheme 1所示. 丁苯那嗪(TBZ)参照文献[21]方法制备. 丁苯那嗪(化合物1)在醋酸铵、氰基硼氢化钠的作用下,通过Borch还原氨化反应生成2-氨基-二氢丁苯那嗪(2-NH<sub>2</sub>-DTBZ,化合物2). 粗产物经柱层析分离纯化获得 $\alpha$ 型与 $\beta$ 型2种2-NH<sub>2</sub>-DTBZ非对映异构体(化合物2a和2b).



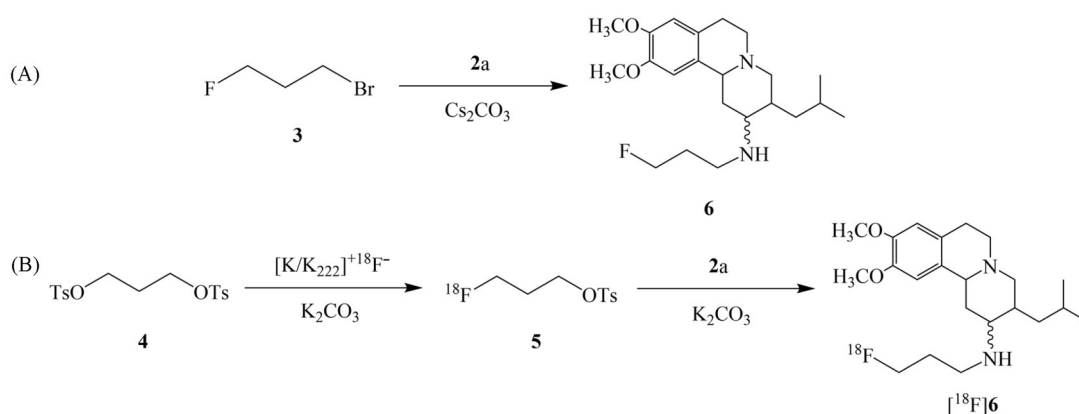
Scheme 1 Synthetic route of  $\alpha$ -2-NH<sub>2</sub>-DTBZ and  $\beta$ -2-NH<sub>2</sub>-DTBZ

1.2.1 化学合成 将丁苯那嗪(2 g, 6.3 mmol)、醋酸铵(4.86 g, 63 mmol)和氰基硼氢化钠(0.4 g, 6.3 mmol)溶于50 mL无水甲醇中,加入3 g分子筛(0.3 nm),将混合体系于室温下持续搅拌反应24 h.反应结束后,用100 mL甲醇稀释反应液并过滤;减压浓缩除去甲醇溶剂,残留物用50 mL水溶解;用浓盐酸调节水相至pH<4,随后用乙醚萃取(100 mL×2);弃去有机相,用5 mol/L氢氧化钠溶液将水相调节至pH>10,再次用乙醚萃取(100 mL×2);合并乙醚萃取液,用饱和食盐水洗涤后,用无水硫酸钠干燥,过滤去除干燥剂,经减压浓缩得到粗产物2.

1.2.2 分离纯化 采用湿法将300~400目干燥硅胶装填至直径为4 cm的玻璃层析柱中,期间辅以橡胶锤轻击柱壁以排除气泡,确保硅胶填装致密,形成径高比约为1:7的稳定硅胶柱体系.取合成的2-NH<sub>2</sub>-DTBZ粗品约2 g,用2 mL无水甲醇完全溶解后,沿柱壁缓慢上样至硅胶层表面,继而在硅胶表层覆盖脱脂棉层,有效避免洗脱剂冲刷导致柱床表面扰动.选用二氯甲烷-甲醇(体积比10:1)混合溶剂作为洗脱体系,控制洗脱流速约为5 mL/min.使用锥形瓶按约30 mL/份进行淋洗液收集,同步利用薄层色谱法(TLC)实时监测分离进程.最终,依据TLC检测结果对目标组分进行差异收集,实现2-NH<sub>2</sub>-DTBZ非对映异构体的有效分离.

### 1.3 $\alpha$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪的氟[<sup>18</sup>F]标记研究

Scheme 2(A)示出了非放射性对照化合物6的合成路线,该化合物作为关键参比物用于放射性标记产物的结构确证. $\alpha$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪的氟[<sup>18</sup>F]标记工艺如Scheme 2(B)所示,实验中基于两步一锅法策略<sup>[22,23]</sup>进行该化合物的放射性氟标记.



Scheme 2 Synthetic route of the non-radioactive reference compound 6(A) and the fluorine-18 labeling of  $\alpha$ -2-NH<sub>2</sub>-DTBZ(B)

1.3.1 放射性对照化合物的制备 将化合物2a(5 mg, 12.8  $\mu$ mol)置于氮气保护的三颈瓶中,加入无水DMF(1.0 mL)溶解后,依次加入Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(20.85 mg, 64  $\mu$ mol)和1-溴-3-氟丙烷(化合物3, 1.5  $\mu$ L, 15.96  $\mu$ mol),将混合物置于油浴锅中于90  $^{\circ}$ C加热搅拌12 h,反应液变为棕色.反应完成后,用10 mL水淬灭,水相用乙酸乙酯(25 mL×3)萃取,合并有机相用无水硫酸钠干燥,浓缩后化合物6粗品经半制

备高效液相色谱(HPLC)纯化. 色谱柱: Phenomenex Gemini, 5  $\mu\text{m}$ , C18, 10 $\times$ 250 mm; 柱温: 室温; 流动相: 乙腈/水/三氟乙酸(体积比20:80:0.1); 流速: 3.0 mL/min; 检测波长: 280 nm.

1.3.2 放射性氟 $^{18}\text{F}$ 标记 氟 $^{18}\text{F}$ 标记化合物( $^{18}\text{F}$ 6)的制备采用两步一锅法手动放射合成工艺.

氟 $^{18}\text{F}$ 离子制备: 通过 $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ 核反应在回旋加速器中产生氟 $^{18}\text{F}$ 离子, 经QMA柱捕获后, 采用1 mL Stock溶液(150 mg  $\text{K}_{222}+50$  mg  $\text{K}_2\text{CO}_3+1$  mL水溶解于8 mL乙腈中)进行洗脱. 将收集的 $^{18}\text{F}$ F $^-$ 洗脱液(初始活度11.1 GBq)置于95  $^\circ\text{C}$ 氮气气流下蒸发浓缩3 min后, 加入2 mL乙腈继续干燥2 min.

核素标记反应: 向干燥后的 $^{18}\text{F}$ F $^-$ 体系中加入0.5 mL含8 mg 1,3-双(甲苯磺酰氧基)丙烷(化合物4)的乙腈溶液, 于95  $^\circ\text{C}$ 搅拌反应15 min. 通氮气去除溶剂后, 得到放射性中间产物5粗品, 未经纯化进一步注入0.3 mL含8 mg化合物2a的DMF溶液, 于135  $^\circ\text{C}$ 持续反应25 min.

产物的分离纯化: 待上述反应终止后, 采用半制备HPLC系统(Waters XBridge C $_{18}$ 柱, 10 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )进行纯化, 流动相为乙腈/水/三乙胺(体积比35:65:0.1), 流速3.0 mL/min. 收集的放射性产物 $^{18}\text{F}$ 6馏分经50 mL去离子水稀释后, 通过Sep-Pak C18柱富集, 最终用2 mL乙醇洗脱产物 $^{18}\text{F}$ 6.

1.3.3 放射性产物分析验证 采用分析型HPLC系统对标记产物 $^{18}\text{F}$ 6进行了放射化学纯度分析及结构确证. 实验条件: Phenomenex Gemini C $_{18}$ 色谱柱(4.6 mm $\times$ 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 流动相为甲醇/水/三氟乙酸(体积比35:65:0.1), 流速1.0 mL/min. 为了验证标记产物的化学结构, 将放射性标记产物 $^{18}\text{F}$ 6与其对应的非放射性化合物6进行了HPLC对比分析, 该系统配备紫外和放射性检测器以监测洗脱过程. 通过对比 $^{18}\text{F}$ 6的放射性色谱峰与化合物6的紫外色谱峰保留时间是否一致, 以确证标记产物的化学结构.

1.3.4 放射性产物摩尔活度的测定 通过逐级稀释法将化合物6的储备液(1.00 mg/mL)配制成5种不同浓度(0.05, 0.10, 0.20, 0.40和0.80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的标准溶液. 采用放射性产物分析验证的色谱条件进行HPLC分析, 并全程使用紫外检测器采集色谱图. 以各浓度下化合物6的HPLC峰面积值为纵坐标, 其对应浓度为横坐标绘制标准曲线. 利用该标准曲线测定放射性产物 $^{18}\text{F}$ 6中载体化合物6的未知浓度. 随后, 根据终产物 $^{18}\text{F}$ 6在放射合成结束时的放射性活度除以载体化合物6的摩尔量, 通过下式计算得出摩尔活度( $A_m$ )值:

$$A_m = \frac{[^{18}\text{F}]6 \text{ activity}}{\sum \text{mole (Compound 6)}}$$

1.3.5 放射性产物 microPET/MR 显像 将正常SD大鼠置于麻醉诱导箱内实施异氟烷吸入麻醉, 待麻醉生效后转移至microPET/MR成像平台. 将SD大鼠体位固定后持续通过异氟烷维持麻醉状态并监测呼吸频率, 待呼吸平稳后经尾静脉注射约500  $\mu\text{Ci}/0.5$  mL的 $^{18}\text{F}$ 6. 自注射起始即刻启动脑部显像数据采集, 持续记录0~90 min动态影像数据. 数据采集全程实时监测呼吸状态, 动态调节麻醉气体浓度以维持生理稳定性. 采用MLEM迭代重建算法进行图像重建, 通过PMOD软件完成感兴趣区(ROI)的精淮勾画与定量分析, 从而获得 $^{18}\text{F}$ 6脑内时间-放射性摄取曲线(TAC).

## 2 结果与讨论

### 2.1 2-氨基-二氢丁苯那嗪非对映异构体的分离纯化与结构表征

据文献[18,24]报道, 丁苯那嗪2-位酮基还原生成二氢丁苯那嗪时会产生具有显著生物活性差异的 $\alpha$ 与 $\beta$ 型2种非对映异构体. 基于这一反应特性, 在丁苯那嗪2-位引入氨基的过程中同样可能形成 $\alpha$ 与 $\beta$ 型2种2-氨基-二氢丁苯那嗪非对映异构体. 考虑到2种构型可能存在的显著药理活性差异, 建立有效的2-氨基-二氢丁苯那嗪非对映异构体的分离方法成为后续开展立体选择性药效学研究的先决条件. 然而, 目前尚缺少有效的分离 $\alpha$ 与 $\beta$ 型2种非对映异构体的方法<sup>[17,20]</sup>, 制约了相关研究的深入开展. 本文通过系统的柱层析条件优化, 解决这一技术问题. 如图1(A)所示, 2-氨基-二氢丁苯那嗪粗品的TLC监测结果显示, 共获得3个特征性馏分(I, II和III). 质谱表征结果表明, 馏分I为化学合成反应杂

质[图1(B)], 馏分II和III呈现相同的分子离子峰, 确认为目标化合物2-氨基-二氢丁苯那嗪的2种非对映异构体[图1(C)和(D)], ESI-MS( $C_{19}H_{31}N_2O_2^+$ 计算值),  $m/z$ : 319.49(319.46)[ $M+H$ ] $^+$ ]. 需要指出的是, 当前柱层析馏分收集过程中存在部分交叉混合现象, 后续重复柱层析实验可通过降低每瓶淋洗液的收集量进一步提升分离效率. 研究表明, 二氢丁苯那嗪的2种非对映异构体中 $\alpha$ 构型的极性略小于 $\beta$ 构型<sup>[18,25]</sup>. 根据这一极性差异特征, 结合本研究柱层析的洗脱顺序(馏分II先于馏分III被洗脱), 可推断先洗脱的馏分II应为 $\alpha$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪, 而后洗脱的馏分III则对应 $\beta$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪. 此外, 基于二氢丁苯那嗪类化合物的立体构型特征<sup>[18,19]</sup>, 理论上 $\alpha$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪包含(2*R*,3*R*,11*bR*)-2-NH<sub>2</sub>-DTBZ和(2*S*,3*S*,11*bS*)-2-NH<sub>2</sub>-DTBZ一对对映异构体, 而 $\beta$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪则由另一对对映异构体(2*S*,3*R*,11*bR*)-2-NH<sub>2</sub>-DTBZ和(2*R*,3*S*,11*bS*)-2-NH<sub>2</sub>-DTBZ构成(Scheme 1). 值得注意的是, 非对映异构体的有效分离是实现单一对映异构体手性分离的重要前提. 因此, 所建立的2-氨基-二氢丁苯那嗪非对映异构体分离方法为后续开展单一对映异构体的手性拆分及其构效关系研究奠定了基础.

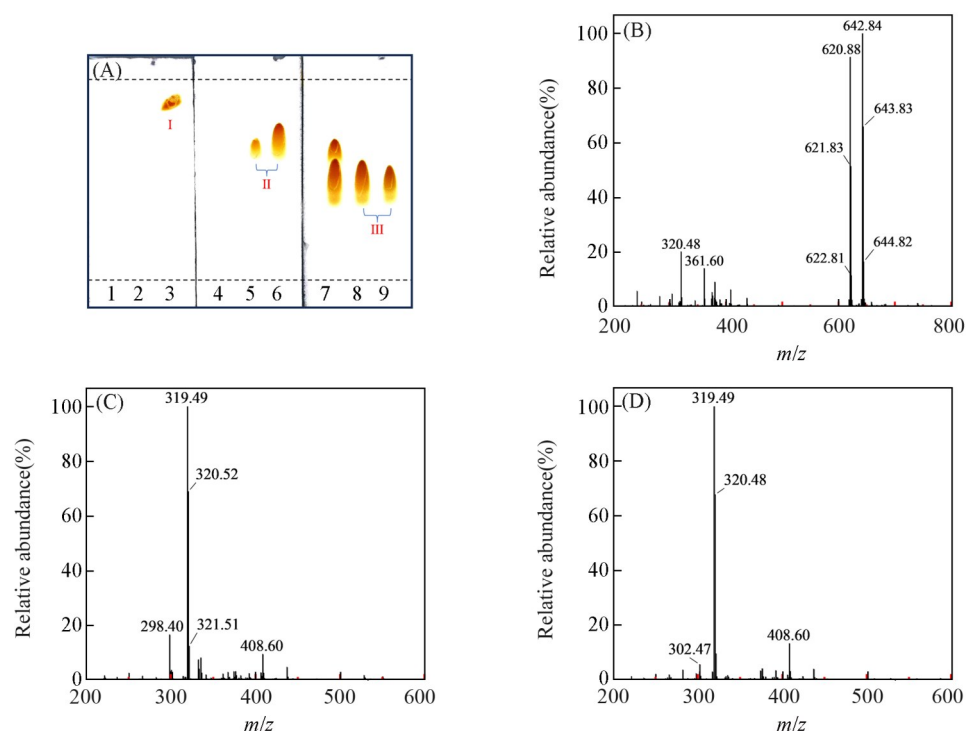


Fig. 1 TLC monitoring results of crude 2-amino-dihydrobutyrazine column chromatography(A) and the mass spectra of fraction I(B), fraction II(C) and fraction III(D)

进一步利用核磁共振波谱对2-氨基-二氢丁苯那嗪2种非对映异构体进行了结构表征(图2和图3).  $\alpha$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪:  $^1H$  NMR(400 MHz, chloroform-d),  $\delta$ : 6.69(s, 1H), 6.58(s, 1H), 3.85(s, 6H), 3.41(d,  $J=11.5$  Hz, 1H), 3.25(q,  $J=3.4$  Hz, 1H), 3.12(ddd,  $J=16.5, 11.9, 6.0$  Hz, 1H), 2.96(ddd,  $J=11.4, 6.2, 1.8$  Hz, 1H), 2.64(td,  $J=12.1, 4.2$  Hz, 2H), 2.54(td,  $J=11.5, 4.1$  Hz, 1H), 2.42~2.25(m, 2H), 2.03(dtt,  $J=11.4, 7.3, 3.8$  Hz, 1H), 1.80~1.54(m, 4H), 1.21(dt,  $J=13.9, 7.1$  Hz, 1H), 1.11(dt,  $J=13.8, 7.4$  Hz, 1H), 0.93(dd,  $J=8.2, 6.5$  Hz, 6H);  $^{13}C$  NMR(101 MHz, chloroform-d),  $\delta$ : 147.37, 147.10, 130.10, 126.93, 111.53, 108.07, 56.45, 56.13, 55.99, 55.83, 52.61, 47.91, 39.64, 39.45, 37.27, 29.16, 24.84, 23.13, 22.89.  $\beta$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪:  $^1H$  NMR(400 MHz, chloroform-d),  $\delta$ : 6.70(s, 1H), 6.57(s, 1H), 3.84(s, 6H), 3.16~2.94(m, 4H), 2.68~2.58(m, 1H), 2.47(dddt,  $J=15.5, 11.6, 7.6, 3.4$  Hz, 3H), 1.97(t,  $J=11.2$  Hz, 1H), 1.81(s, 2H), 1.67(d,  $J=3.9$  Hz, 1H), 1.57~1.44(m, 2H), 1.44~1.23(m, 1H), 1.04(ddd,

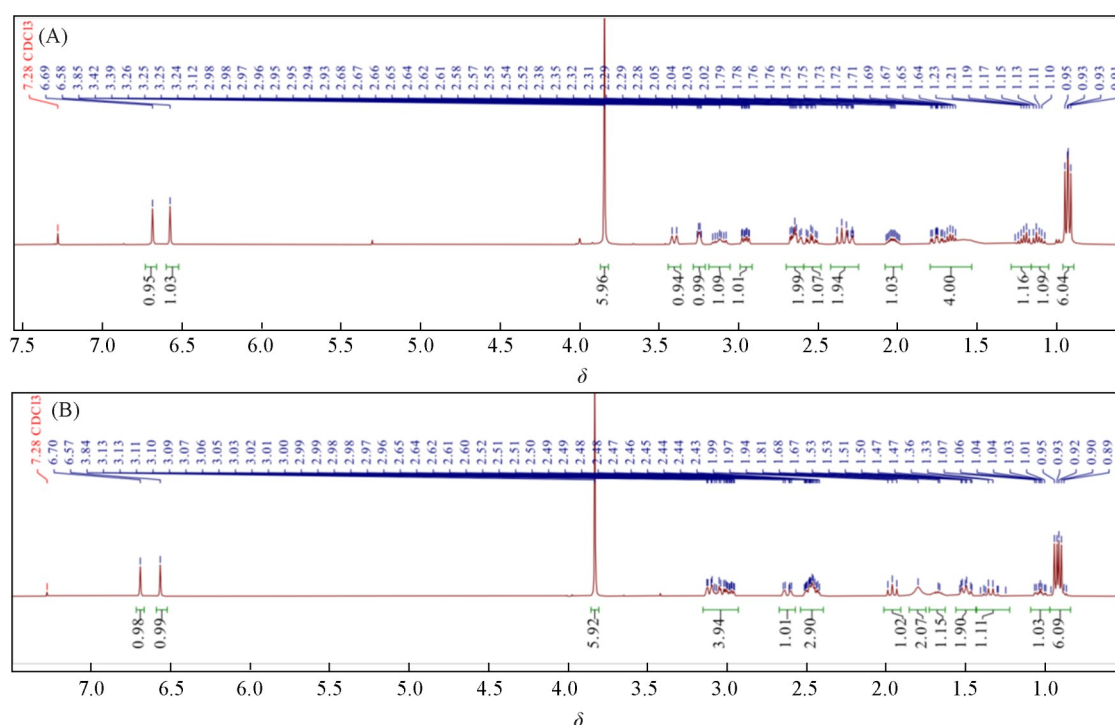


Fig. 2 <sup>1</sup>H NMR spectra of α-2-NH<sub>2</sub>-DTBZ(A) and β-2-NH<sub>2</sub>-DTBZ(B)

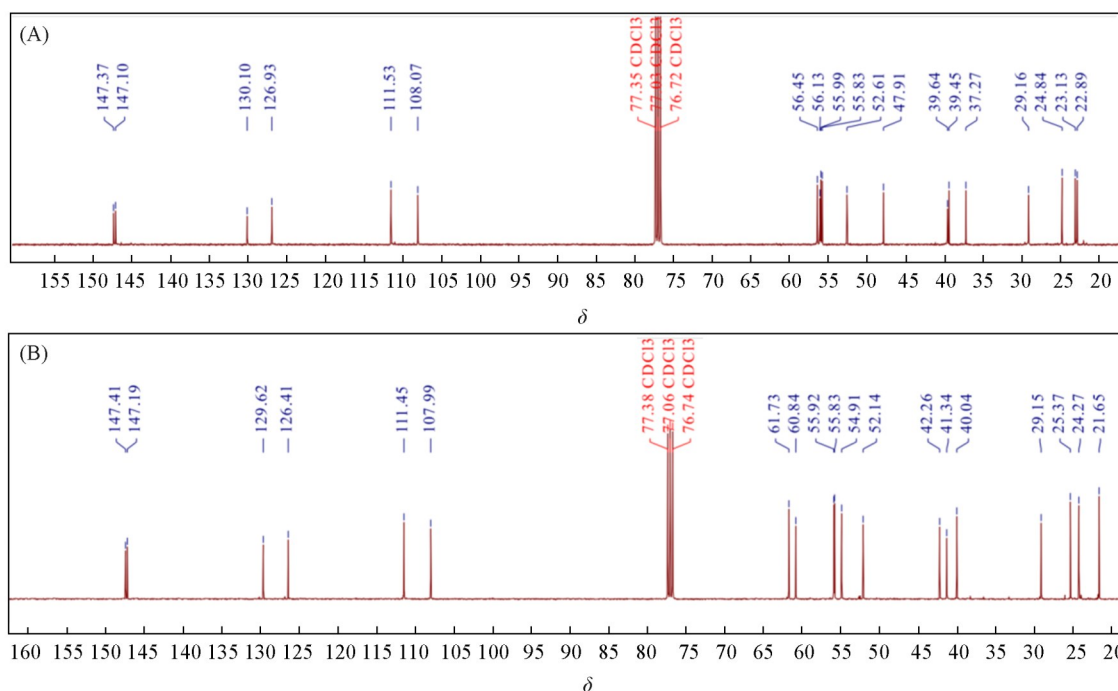


Fig. 3 <sup>13</sup>C NMR spectra of α-2-NH<sub>2</sub>-DTBZ(A) and β-2-NH<sub>2</sub>-DTBZ(B)

$J=14.1, 10.5, 4.2$  Hz, 1H), 0.93 (dd,  $J=11.4, 6.5$  Hz, 6H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, chloroform-d),  $\delta$ : 147.41, 147.19, 129.62, 126.41, 111.45, 107.99, 61.73, 60.84, 55.92, 55.83, 54.91, 52.14, 42.26, 41.34, 40.04, 29.15, 25.37, 24.27, 21.65. 核磁共振氢谱(<sup>1</sup>H NMR)分析表明, 2-氨基-二氢丁苯那嗪的2种非对映异构体在关键结构单元中展现出显著的光谱共性特征: 苯环区域观测到2组单重态信号( $\delta$  6.7和6.6), 提示分子中存在2种不同化学环境的芳香质子, 该现象可能源于苯环取代基的对称性差异导致质子分裂为2组等价体系; 甲氧基(—OCH<sub>3</sub>)特征峰以单重态形式出现在 $\delta$  3.8, 其化学位移符合芳环邻位取代的典型特征, 且未观测到偶合分裂现象, 表明该取代基处于对称性较高的化

学环境；分子末端的甲基质子( $-\text{CH}_3$ )呈现特征性双峰信号( $\delta$  0.93)，提示该甲基与相邻的次甲基质子存在显著的空间偶合作用。此外，值得注意的是，2种非对映异构体在3个手性中心附近的亚甲基( $-\text{CH}_2-$ )和次甲基( $-\text{CH}-$ )区域展现出显著差异，其复杂的分裂谱图可归因于非对映异构体之间空间构型差异导致的偶合常数变化及电子微环境扰动。在 $^{13}\text{C}$  NMR谱中，2-氨基-二氢丁苯那嗪的2种非对映异构体均呈现出与分子中19个碳原子精确对应的19组特征信号(扣除溶剂峰)。波谱分析结果显示，苯环取代区域的3组特征碳信号( $\delta$  147, 130和110附近)在2种异构体中保持高度一致，这与分子中刚性芳香体系的电子结构特征相吻合。值得注意的是，其余碳原子的化学位移在不同非对映异构体间呈现出 $\delta$  1~5的位移差异，这一现象可归因于立体异构体中特定手性中心对邻近碳原子立体化学环境的影响。通过系统解析发现，所有碳信号的裂分模式、位移特征及其相对强度均与目标分子复杂立体化学结构及多取代芳香体系高度吻合。

对2-氨基-二氢丁苯那嗪2种非对映异构体的有效分离机制进行了分析。基于手性环境对核磁共振行为的调控原理，在非手性条件下，对映异构体混合物中同位置质子因处于各向同性磁环境而呈现等同的化学位移；与之形成明显对比的是，非对映异构体混合物因空间构型差异引发的各向异性磁屏蔽效应，其同位置质子通常在氢谱中表现出显著裂分的多重峰信号<sup>[13,21]</sup>。2-氨基-二氢丁苯那嗪非对映异构体的 $^1\text{H}$  NMR表征结果(图2)显示，经分离的2种非对映异构体在苯环区域的2个特征性质子均呈现出独立的单峰信号；若体系存在非对映异构体共存情况，依据理论预测应观察到多重裂分信号。实验结果中单峰信号展现出的优异分辨率与完整峰形特征，充分验证了所建立分离方法可实现 $\alpha$ 型与 $\beta$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪非对映异构体的有效分离，且所得产物的非对映异构体立体化学纯度已达到结构表征的技术要求。

## 2.2 $\alpha$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪的氟 $^{18}\text{F}$ 标记

研究<sup>[18]</sup>表明，二氢丁苯那嗪的非对映异构体中 $\alpha$ 构型相较于 $\beta$ 构型展现出较强的生物活性。基于该构效关系规律，推测 $\alpha$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪可能同样具有优于 $\beta$ 型异构体的生物活性特征。为此，本文聚焦于 $\alpha$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪的氟 $^{18}\text{F}$ 标记方法研究，建立了两步一锅法手动放射合成工艺。实验结果显示，目标放射性标记产物 $^{18}\text{F}$ 6在半制备HPLC纯化过程中于16 min处呈现产品洗脱峰，整个放射合成流程耗时约100 min，未校正放射化学产率约10%。目标放射性产物经分析型HPLC验证放射化学纯度(>99%)，其保留时间(5.6 min)与非放射性对照化合物6一致[图4(A)]，证实了 $^{18}\text{F}$ 标记策略的准确性及产物的放射化学均一性。此外，非放射性对照化合物6经电喷雾电离质谱确认其化学结构[图4(B)]，ESI-MS( $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{FN}_2\text{O}_2^+$ 计算值)， $m/z$ : 379.50(379.53)[ $\text{M}+\text{H}^+$ ]。该放射性标记方法的建立为后续开发基于 $\alpha$ 型2-氨基-二氢丁苯那嗪分子骨架的新型PET探针奠定了技术基础。

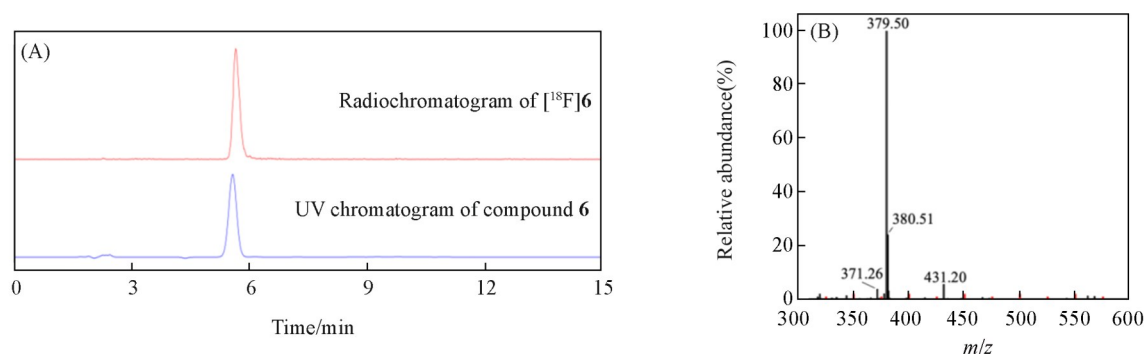


Fig. 4 Chromatographic comparison between  $^{18}\text{F}$ 6 and the non-radioactive reference compound 6(A), and the mass spectra of the non-radioactive reference compound 6(B)

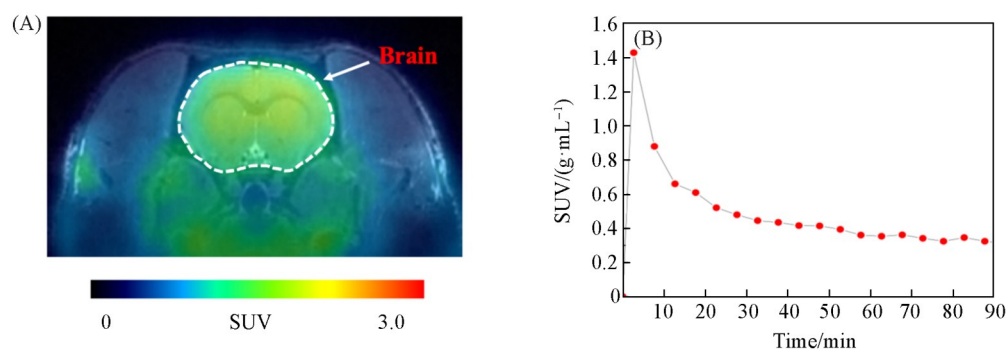
在神经受体显像领域，摩尔活度( $A_m$ )作为放射性药物开发中的关键质量控制参数之一，其数值大小对核医学成像的定量分析具有重要影响。为此，测定了放射性标记产物 $^{18}\text{F}$ 6的 $A_m$ 值。通过HPLC建立的化合物6定量分析方法表明，在0.05~0.80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内，化合物6的浓度与HPLC紫外检测峰

面积呈现良好的线性关系, 相关系数  $R^2=0.99$ . 所得标准曲线方程为  $y=1713.9x+28.5$  (其中,  $x$  表示化合物 **6** 的浓度,  $y$  代表对应的紫外峰面积). 基于该标准曲线, 对放射性产物 [ $^{18}\text{F}$ ]**6** 中载体化合物 **6** 的未知浓度进行了测定, 结果显示其浓度范围为  $0.1\sim 0.3\ \mu\text{g/mL}$ . 3 个批次的重复实验测定结果表明, 放射性产物 [ $^{18}\text{F}$ ]**6** 在放射合成结束时的摩尔活度为  $(36.23 \pm 6.18)\ \text{GBq}/\mu\text{mol}$  (数据见表 1). 虽然当前获得的摩尔活度已达到常规显像要求, 但考虑到该参数与神经受体显像的靶本比及信噪比呈显著正相关, 后续研究将通过进一步优化标记方法、改进纯化工艺等手段来提升放射性产物 [ $^{18}\text{F}$ ]**6** 的摩尔活度, 以满足更精准的神经营体成像需求.

**Table 1** Radioactive concentration, compound **6** content and molar activity of [ $^{18}\text{F}$ ]**6**(at the end of synthesis)

[ $^{18}\text{F}$ ] <b>6</b> Batch number	Radioactive concentration/( $\text{MBq}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	Compound <b>6</b> content/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	Molar activity/( $\text{GBq}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$ )
1	22.20	0.28	30.41
2	21.83	0.19	42.72
3	11.10	0.12	35.56

穿透血脑屏障(BBB)是脑内靶向放射性探针发挥显像功能的关键前提. 为了初步验证基于  $\alpha$  型 2-NH<sub>2</sub>-DTBZ 分子骨架的脑内 PET 探针穿透 BBB 的能力, 对氟 [ $^{18}\text{F}$ ] 标记的  $\alpha$  型 2-氨基-二氢丁苯那嗪衍生物 [ $^{18}\text{F}$ ]**6** 进行了正常 SD 大鼠 microPET/MR 探索性显像研究. 采用 PMOD 软件对 microPET/MR 影像数据进行处理, 精准勾画全脑结构并选定全脑作为 ROI 区域. 初步实验结果表明, 放射性探针 [ $^{18}\text{F}$ ]**6** 在正常 SD 大鼠脑内具有中等程度的放射性摄取 [图 5(A)]. PMOD 软件系统根据标准放射性摄取值(SUV)计算公式 [ $\text{SUV}=\text{ROI}$  内放射性浓度 ( $\text{Bq}/\text{mL}$ )/注射剂量 ( $\text{Bq}$ )/体重 ( $\text{g}$ )] 自动计算并导出探针 [ $^{18}\text{F}$ ]**6** 的 TAC 曲线. 全脑的 TAC 曲线如图 5(B) 所示, [ $^{18}\text{F}$ ]**6** 在给药后 5 min 内迅速达到最大脑摄取值, 其 SUV 值约为  $1.43\ \text{g/mL}$ , 随后呈现持续清除趋势, 至 90 min 时降至约  $0.32\ \text{g/mL}$ . 此结果表明, [ $^{18}\text{F}$ ]**6** 具备穿透血脑屏障的特性, 具有作为脑内 PET 显像探针的应用潜力. 这为进一步筛选、研制以  $\alpha$  型 2-氨基-二氢丁苯那嗪为先导化合物的新型脑内 PET 探针提供了重要的实验依据.



**Fig. 5** MicroPET/MR image(0—90 min) of normal SD rat brain with [ $^{18}\text{F}$ ]**6**(A) and the corresponding TAC curve(B)

### 3 结 论

合成并分离纯化了 2-氨基-二氢丁苯那嗪非对映异构体, 通过结构表征确证了 2 种非对映异构体的化学结构. 此外, 通过氟 [ $^{18}\text{F}$ ] 标记技术初步实现了  $\alpha$  型 2-氨基-二氢丁苯那嗪的放射性标记, 为开发基于该化合物骨架的新型 VMAT2 靶向 PET 示踪探针奠定了技术基础.

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Yu M., Bai Y., Wang M. Y., Chen C. L., *J. Chin. Pract. Diagn. Ther.*, **2024**, 38(4), 420—423 (于淼, 白岩, 王梅云, 陈传亮. 中华实用诊断与治疗杂志, **2024**, 38(4), 420—423)
- [ 2 ] Zhu R. Z., Wang Y., Na J. X., Cao L. L., Zhang H., Wang Y. H., Meng Z., *Chem. J. Chinese Universities*, **2024**, 45(1), 20230391 (朱润芝, 王怡, 纳佳雪, 曹乐乐, 张辉, 王迎辉, 孟哲. 高等学校化学学报, **2024**, 45(1), 20230391)

- [ 3 ] Chang P. Y., Ma L. H., Wang X. M., *J. Inner Mongolia Med. Univ.*, **2017**, 39(1), 82—85(常培叶, 马俐华, 王雪梅. 内蒙古医科大学学报, **2017**, 39(1), 82—85)
- [ 4 ] Liu Y. S., Han W., Wang M. J., Guo S. B., Fu P., *Chin. J. Med. Imaging Technol.*, **2025**, 41(1), 168—171(刘岩松, 韩巍, 王孟娇, 郭士铂, 付鹏. 中国医学影像技术, **2025**, 41(1), 168—171)
- [ 5 ] Xu X. R., Liu A. A., Pang D. W., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2024**, 40(2), 162—172
- [ 6 ] Gu B., Zhang Y. D., Hu G., *Chin. J. Clin. Rehabil.*, **2004**, 8(1), 133—135(顾兵, 张颖冬, 胡刚. 中国临床康复, **2004**, 8(1), 133—135)
- [ 7 ] Wu D., Chen Q. H., Yu Z. Y., Huang B., Zhao J., Wang Y. H., Su J. W., Zhou F., Yan R., Li N., Zhao Y., Jiang D. H., *Nature*, **2024**, 626(7998), 427—434
- [ 8 ] Bidesi N. S. R., Andersen I. V., Windhorst A. D., Shalgunov V., Herth M. M., *J. Neurochem.*, **2021**, 159(4), 660—689
- [ 9 ] Jewett D. M., Kilbourn M. R., Lee L. C., *Nucl. Med. Biol.*, **1997**, 24(2), 197—199
- [ 10 ] Chan G. L. Y., Holden J. E., Stoessl A. J., Samii A., Doudet D. J., Dobko T., Morrison K. S., Adam M., Schulzer M., Calne D. B., Ruth T. J., *J. Nucl. Med.*, **1999**, 40(2), 283—289
- [ 11 ] Simpson N. R., Souza F., Witkowski P., Maffei A., Raffo A., Herron A., Kilbourn M., Jurewicz A., Herold K., Liu E., Hardy M. A., Van Heertum R., Harris P. E., *Nucl. Med. Biol.*, **2006**, 33(7), 855—864
- [ 12 ] Pérez-Lohman C., Kerik N. E., Díaz-Meneses I. E., Cervantes-Arriaga A., Rodríguez-Violante M., *Rev. Invest. Clin.*, **2018**, 70(6), 285—290
- [ 13 ] Goswami R., Ponde D. E., Kung M. P., Hou C., Kilbourn M. R., Kung H. F., *Nucl. Med. Biol.*, **2006**, 33(6), 685—694
- [ 14 ] Liu C. Y., Tang J., Xu Y. J., Cao S. S., Fang Y., Zhao C., Chen Z. P., *J. Pharmaceut. Biomed.*, **2021**, 203, 114212
- [ 15 ] Zhao C., Liu C. Y., Tang J., Xu Y. J., Xie M. H., Chen Z. P., *Mol. Imaging Biol.*, **2020**, 22(2), 265—273
- [ 16 ] Tang J., Xu Y. J., Liu C. Y., Fang Y., Cao S. S., Zhao C., Huang H. B., Zou M. F., Chen Z. P., *Nucl. Med. Biol.*, **2020**, 90–91, 1—9
- [ 17 ] Zhu L., Liu J. Y., Kung H. F., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, 19(17), 5026—5028
- [ 18 ] Kilbourn M. R., Lee L. C., Heeg M. J., Jewett D. M., *Chirality*, **1997**, 9(1), 59—62
- [ 19 ] Liu C. Y., Chen Z. P., Li X. M., Tang J., Qin X. F., *Chirality*, **2013**, 25(4), 215—223
- [ 20 ] Canney D. J., Kung M. P., Kung H. F., *Nucl. Med. Biol.*, **1995**, 22(4), 527—535
- [ 21 ] Liu C. Y., Chen Z. P., Li X. M., Tang J., *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **2012**, 557(1), 39—49
- [ 22 ] Zhang X. H., Geng P., Xiang J. J., Yan J. Y., Mao M. F., Xiao S. Z., *Chem. J. Chinese Universities*, **2024**, 45(1), 20230432(张兴红, 耿鹏, 向娟娟, 晏佳莹, 毛妙付, 肖述章. 高等学校化学学报, **2024**, 45(1), 20230432)
- [ 23 ] Guo R., Zhang J. M., Jia X. H., Shi C. F., Qie F. X., Zhen Y. G., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2023**, 39(6), 1106—1110
- [ 24 ] Lee L. C., Vander Borcht T., Sherman P. S., Frey K. A., Kilbourn M. R., *J. Med. Chem.*, **1996**, 39(1), 191—196
- [ 25 ] Schwartz D. E., Bruderer H., Rieder J., Brossi A., *Biochem. Pharmacol.*, **1966**, 15(5), 645—655

(Ed.: L, V, K)