



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102351941 A

(43) 申请公布日 2012. 02. 15

(21) 申请号 201110152843. X *C07K 7/64* (2006. 01)

(22) 申请日 2011. 06. 08 *C07K 7/06* (2006. 01)

(71) 申请人 中国科学院上海应用物理研究所 *C07D 249/04* (2006. 01)
地址 201800 上海市嘉定区嘉罗公路 2019 号 *C07D 401/12* (2006. 01)
C07D 249/06 (2006. 01)

(72) 发明人 张岚 施玲丽 李剑波 王成 周伟

(74) 专利代理机构 上海智信专利代理有限公司 31002
代理人 薛琦 朱水平

(51) Int. Cl. *C07K 1/13* (2006. 01)

权利要求书 4 页 说明书 12 页 附图 6 页

(54) 发明名称

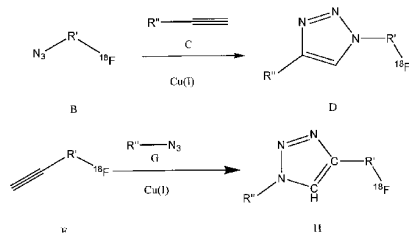
对功能分子进行 ¹⁸F 标记的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种对功能分子进行 ¹⁸F 标记的方法, 其为下述两种方法中的任意一种: 方法一: 溶剂中, 在 Cu(I) 的催化下, 将化合物 B 和化合物 C 进行叠氮与端位炔基的 1, 3- 偶极环加成反应, 即可; 方法二: 溶剂中, 在 Cu(I) 的催化下, 将化合物 F 和化合物 G 进行叠氮与端位炔基的 1, 3- 偶极环加成反应, 即可; 其中, R' 为各种适合做 PET 显像探针的功能分子, R'' 为烷基基。本发明的标记方法中, 反应体系稳定、条件温和、操作简单, 该方法具有通用性, 可适用于结构类似的系列化合物标记。除生物试剂外, 本标记方法所用其他原料成本低廉, 前体化合物 B 或 F 结构稳定, 适于大量制备和生产, 并且该方法可用于 PET 显像探针

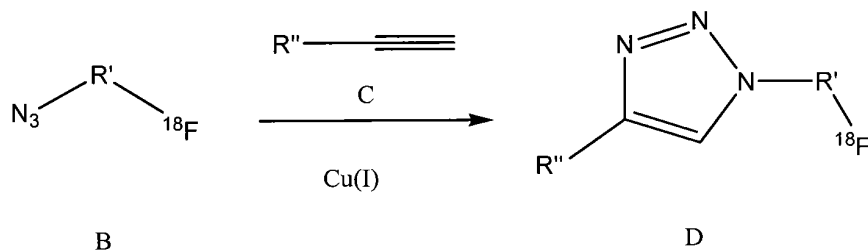
CN 102351941 A

的合成。

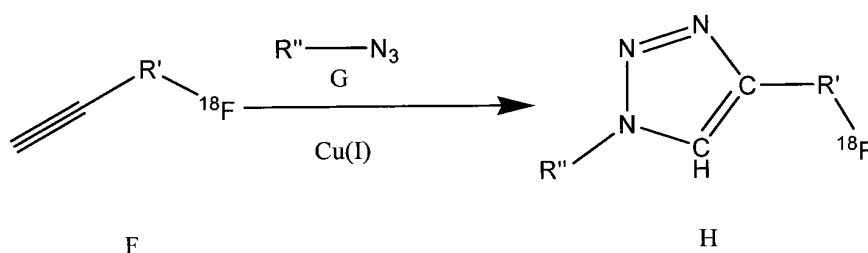


1. 对功能分子进行 ^{18}F 标记的方法, 其为下述两种方法中的任意一种:

方法一: 溶剂中, 在 Cu(I) 的催化下, 将化合物 B 和化合物 C 进行叠氮与端位炔基的 1, 3-偶极环加成反应, 即可制得化合物 D;

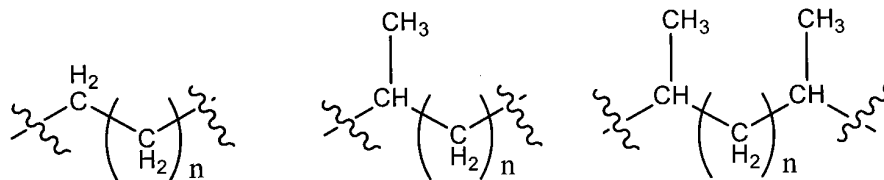


方法二: 溶剂中, 在 Cu(I) 的催化下, 将化合物 F 和化合物 G 进行叠氮与端位炔基的 1, 3-偶极环加成反应, 即可制得化合物 H;



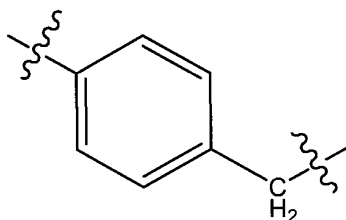
其中, R' 为 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$ 的直链烷基或支链烷基、 $\text{C}_5 \sim \text{C}_7$ 环烷基、 $\text{C}_6 \sim \text{C}_{10}$ 芳基、 $\text{C}_6 \sim \text{C}_{10}$ 芳基 - $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 烷基或者 $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 烷基 - $\text{C}_6 \sim \text{C}_{10}$ 芳基 - $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 烷基, R'' 为本领域适合做 PET 显像探针的多肽类、苯磺酰胺类或其他能被叠氮或端炔基团修饰的功能分子取代基。

2. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于: R' 中, 所述的 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$ 的直链烷基或支链烷基为如下任一基团:

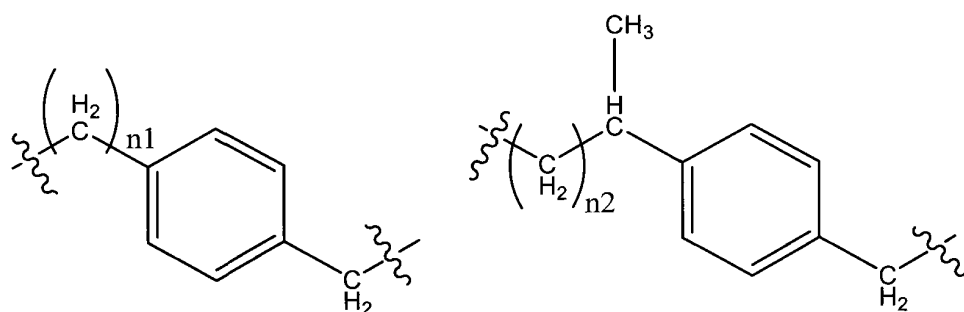


$n = 0 \sim 8$ 。

3. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于: R' 中, 所述的 $\text{C}_6 \sim \text{C}_{10}$ 芳基 - $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 烷基为如下基团:

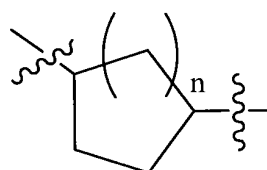


所述的 $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 烷基 - $\text{C}_6 \sim \text{C}_{10}$ 芳基 - $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 烷基为如下任一基团:



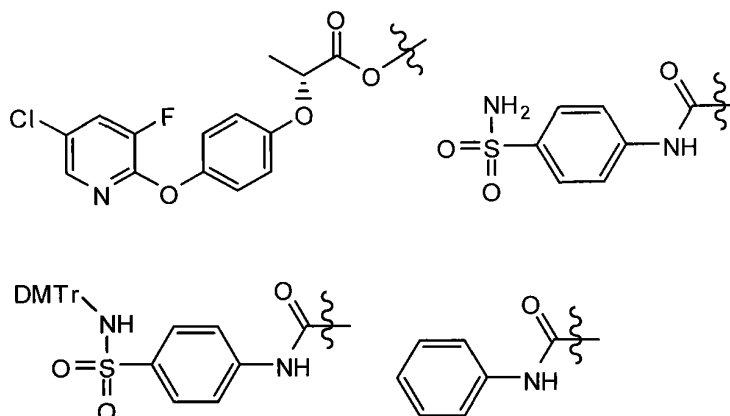
其中 $n_1 = 1 \sim 4$, $n_2 = 0 \sim 4$;

所述的 $C_5 \sim C_7$ 环烷基为如下基团:

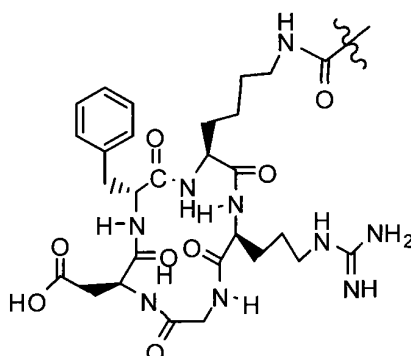


其中 $n = 1 \sim 3$ 。

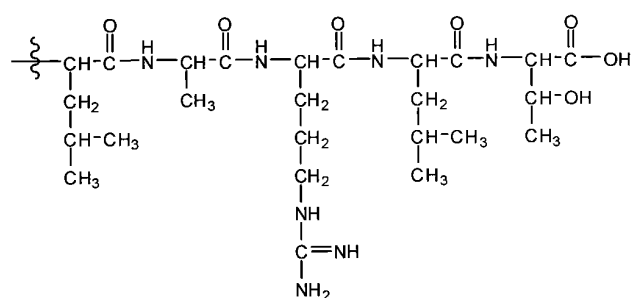
4. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于:R”中,所述的适合做 PET 显像探针的功能分子取代基为多肽类功能分子取代基 RGD 肽、Leu-Ala-Arg-Leu-Leu-Thr 肽、或者如下任一基团:



其中,所述的 RGD 肽为如下结构:



所述的 Leu-Ala-Arg-Leu-Leu-Thr 肽为如下结构:



5. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于:所述的化合物 B 的沸点低于 200℃。

6. 如权利要求 1 ~ 5 任一项所述的方法,其特征在于:方法一中,所述的 1,3- 偶极环加成反应包含下列步骤:溶剂中, pH 为 3 ~ 12, 在 Cu(I) 的催化下,将化合物 B 和 C 进行叠氮与端位炔基的 1,3- 偶极环加成反应,即可;

方法二中,所述的 1,3- 偶极环加成反应包含下列步骤:溶剂中, pH 为 3 ~ 12, 在 Cu(I) 的催化下,将化合物 F 和 G 进行叠氮与端位炔基的 1,3- 偶极环加成反应,即可。

7. 如权利要求 6 所述的方法,其特征在于:方法一或二中:

所述的 pH 为 6 ~ 8;所述的溶剂为水、叔丁醇、乙腈和四氢呋喃中的一种或多种;当 R'' 为多肽类化合物分子取代基时,以水为溶剂;化合物 B 或 F 与溶剂的摩尔体积比为 $(5.85 \times 10^{-14} \text{ mol} \sim 5.85 \times 10^{-10} \text{ mol}) / (0.2 \sim 1 \text{ mL})$, 或者化合物 B 或 F 在溶剂中的放射性活度为 1mCi ~ 2Ci;当反应溶剂中含水时,其他有机溶剂的体积不超过水的体积;所述的化合物 C 或 G 在反应液中的浓度为 0.2 ~ 20mmol/L;所述的 Cu(I) 的量为化合物 C 或 G 的摩尔量的 1 倍 ~ 20 倍;所述的 Cu(I) 在反应液中的浓度为 5mmol/L ~ 100mmol;所述的 1,3- 偶极环加成反应的温度为 10 ~ 100℃;所述的 1,3- 偶极环加成反应的时间为 1 ~ 80 分钟。

8. 如权利要求 7 所述的方法,其特征在于:所述的 Cu(I) 的量为化合物 C 或 G 的摩尔量的 8 倍 ~ 15 倍;所述的化合物 C 或 G 在反应液中的浓度为 3.8 ~ 7mmol/L;所述的 1,3- 偶极环加成反应的温度为 30 ~ 65℃;所述的 1,3- 偶极环加成反应的时间为 10 ~ 20 分钟。

9. 如权利要求 6 所述的方法,其特征在于:

所述的 Cu(I) 通过下述任一形式的 Cu(I) 来参与反应:

- ①将二价铜的强酸盐和抗坏血酸或其强碱盐进行还原反应,制得 Cu(I);
- ②碘化亚铜或溴化亚铜和弱碱性铜配体的溶液;
- ③将 Cu(0) 氧化,制得 Cu(I)。

10. 如权利要求 9 所述的方法,其特征在于:

②中,所述的弱碱性铜配体为氨水、三乙胺或二异丙基乙胺;所述的碘化亚铜或溴化亚铜和弱碱性铜配体的摩尔比为 1 : 5 ~ 1 : 1000。

11. 如权利要求 9 所述的方法,其特征在于:②中,所述的碘化亚铜或溴化亚铜和弱碱性铜配体的摩尔比为 1 : 100 ~ 1 : 300。

12. 如权利要求 9 所述的方法,其特征在于:

①中,所述的二价铜的强酸盐为硫酸铜、硝酸铜和氯化铜中的一种或多种;所述的抗坏血酸的强碱盐为抗坏血酸钠、抗坏血酸钾和抗坏血酸钙中的一种或多种;所述的二价铜的强酸盐和抗坏血酸或其强碱盐的摩尔比为 1 : 1.1 ~ 1 : 3;

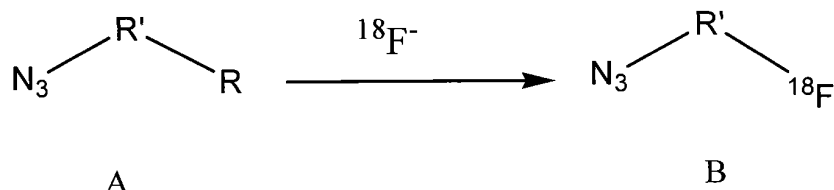
③中,所述的氧化通过空气中的氧气进行氧化,或者通过加入氧化剂进行氧化。

13. 如权利要求 12 所述的方法,其特征在于:

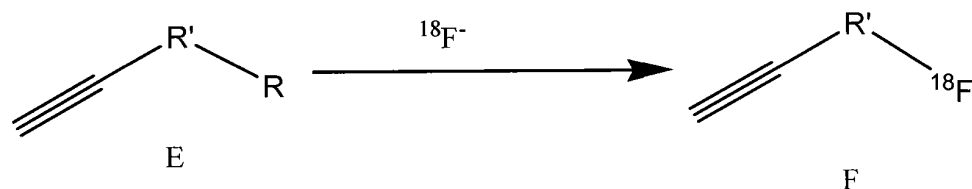
①中,所述的二价铜的强酸盐为硫酸铜、硝酸铜和氯化铜中的一种或多种;所述的抗坏血酸的强碱盐为抗坏血酸钠、抗坏血酸钾和抗坏血酸钙中的一种或多种,;所述的二价铜的强酸盐和抗坏血酸或其强碱盐的摩尔比为 1 : 1.5 ~ 1 : 1.8 ;

③中,所述的氧化剂为硫酸铜。

14. 如权利要求 1 ~ 5 任一项所述的方法,其特征在于:所述的化合物 B 由下列方法制得:将化合物 A 和 $^{18}\text{F}^-$ 进行亲核取代反应,即可;



所述的化合物 F 由下列方法制得:将化合物 E 和 $^{18}\text{F}^-$ 进行亲核取代反应,即可;



其中,R 为亲核取代反应中常用的离去基团,R' 的定义同权利要求 1 ~ 5 任一项所述。

15. 如权利要求 14 所述的方法,其特征在于:所述的 R 为 $-\text{OTs}$ 、 $-\text{OMs}$ 或 $-\text{OTf}$ 。

16. 如权利要求 14 所述的方法,其特征在于:所述的亲核取代反应包含下列步骤:有机溶剂中,惰性气体保护下,将含有 K_{222} 、 K_2CO_3 和 $^{18}\text{F}^-$ 的混合物与化合物 A 或 E 进行亲核取代反应,即可;

其中,所述的有机溶剂为无水乙腈、无水二甲基甲酰胺和无水二甲亚砜中的一种或多种;所述的 K_{222} 和 K_2CO_3 的摩尔比为 1 : 3 ~ 7 : 1 ; $^{18}\text{F}^-$ 的活度为 $10 \mu\text{Ci} \sim 2\text{Ci}$;化合物 A 或 E 在反应液中的浓度为 $0.01 \sim 1\text{mol/L}$,其溶液体积用量为 $200 \sim 500 \mu\text{L}$; K_{222} 和化合物 A 或 E 的质量比为 1 : 1 ~ 7 : 1 ;所述的惰性气体为氮气和 / 或氩气;所述的亲核取代反应的温度为 $80 \sim 150^\circ\text{C}$;所述的亲核取代反应的时间为 2-15min。

17. 如权利要求 16 所述的方法,其特征在于:所述的含有 K_{222} 、 K_2CO_3 和 $^{18}\text{F}^-$ 的混合物通过下述方法制得:用 K_{222} 溶液淋洗富集 $^{18}\text{F}^-$ 的 QMA 柱,蒸干溶剂,即可。

18. 如权利要求 17 所述的方法,其特征在于:所述的 K_{222} 溶液通过下述方法制得:将 K_{222} 、 K_2CO_3 、乙腈和水配成溶液,即可,其中,各成分含量范围如下:每 1mL 乙腈中,有 $30 \sim 150 \mu\text{L}$ 水, $1 \sim 7\text{mg}$ K_2CO_3 , $5 \sim 30\text{mg}$ K_{222} 。

19. 如权利要求 14 所述的方法,其特征在于:在亲核取代反应完成后,用下述提纯方法提纯:当化合物 B 或 F 的沸点低于 200°C 时,向反应液中加入乙腈,以氮气作为载气,采用蒸馏方法分离杂质,收集化合物 B 或 F 的乙腈冷凝溶液;所述的蒸馏温度为 $85 \sim 150^\circ\text{C}$,蒸馏时间为 $5 \sim 30$ 分钟。

对功能分子进行 ^{18}F 标记的方法

技术领域

[0001] 本发明具体的涉及对功能分子进行 ^{18}F 标记的方法。

背景技术

[0002] 当前,作为一种分子影像技术的代表,正电子发射断层显像 (Positron emission tomography, PET) 能够定量和高分辨地提供检测数据,已广泛应用于肿瘤的诊断、机理研究和临床治疗 (Simon M. Ametamey, Michael Honer, Pius August Schuiger. " Molecular Imaging with PET ", Chem. Rev. 2008, 108, 1501-1516. PET 分子影像, Paul J. Cassidy, George K. Radda, Molecular imaging perspectives, J. R. Soc. Interface, 2005, 2(3) : 133-144. 分子影像展望)。

[0003] 而在大量的正电子发射性核素中,氟-18 [^{18}F] 原子半径小,半衰期为 109.8min,最大正电子能量 0.64MeV,平均射程 0.22mm,具有优良的核性质和化学性质,是 PET 探针的优选核素 (Okarvi, S.M. (2001). " Recent progress in fluorine-18 labelled peptide radiopharmaceuticals. " Eur J Nucl Med 28(7) :929-38. ^{18}F 标记多肽放射性药物进展)。

[0004] 现在临床的 PET 影像探针主要有:有机小分子类、多肽类、抗体类、基因片段类、寡核苷酸类,其中多肽类以其优良的性质和药理学特性,成为显像药物中的优选。随着 ^{18}F 标记多肽进行肿瘤受体显像成为当今分子核医学研究的主要领域之一,如何利用 ^{18}F 进行多肽的标记也成为重要的研究课题。总体看来,多肽的 ^{18}F 标记主要有直接标记和间接标记两种标记方式,并以间接标记方式为主。利用多肽中存在的羧基、羟基、氨基等活性基团,使用双功能配基连接放射性核素 ^{18}F 和多肽分子,形成 peptide-linker- ^{18}F 的典型结构,是最常用的多步标记方法。(施玲丽.(2008).核技术.(10).多肽的 ^{18}F 标记方法)

发明内容

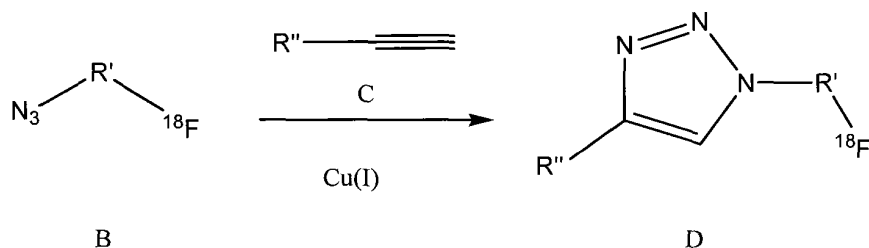
[0005] 本发明所要解决的技术问题是为了提供了一种与现有技术完全不同的对功能分子进行 ^{18}F 标记的方法。本发明的标记方法中,反应体系稳定、条件温和、操作简单,该方法具有通用性,可适用于结构类似的系列化合物标记。除生物试剂外,本标记方法所用其他原料成本低廉,前体化合物 B 或 F 结构稳定,适于大量制备和生产,并且该方法可用于 PET 显像探针的合成。

[0006] 本发明人针对 ^{18}F 及某些类型的化合物而发明了一种全新的 ^{18}F 标记方法。该方法能避免目前常用的 ^{18}F 标记探针在合成中的一些缺点:如反应产率不高、标记过程不具有通用性等。

[0007] 因此,本发明涉及对功能分子进行 ^{18}F 标记的方法,其为下述两种方法中的任意一种:

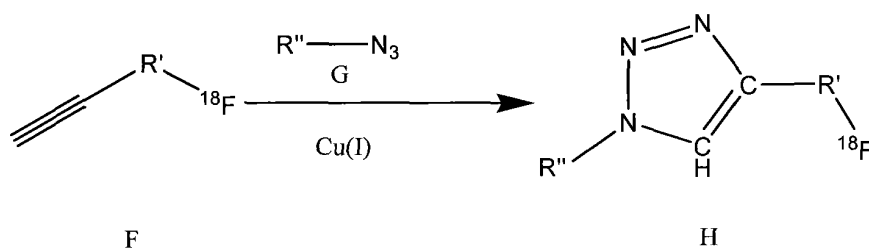
[0008] 方法一:溶剂中,在 Cu(I) 的催化下,将化合物 B 和化合物 C 进行叠氮与端位炔基的 1,3-偶极环加成反应,即可制得化合物 D;

[0009]



[0010] 方法二:溶剂中,在 Cu(I) 的催化下,将化合物 F 和化合物 G 进行叠氮与端位炔基的 1,3-偶极环加成反应,即可制得化合物 H;

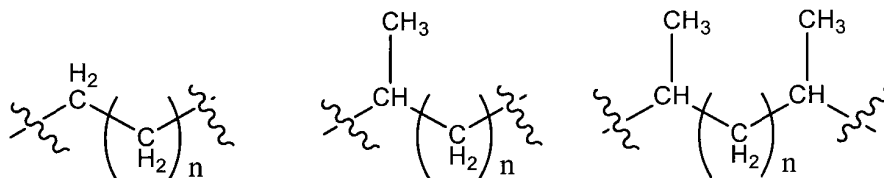
[0011]



[0012] 其中, R' 为 $C_1 \sim C_{12}$ 的直链烷基或支链烷基、 $C_5 \sim C_7$ 环烷基、 $C_6 \sim C_{10}$ 芳基、 $C_6 \sim C_{10}$ 芳基- $C_1 \sim C_4$ 烷基,或者 $C_1 \sim C_4$ 烷基- $C_6 \sim C_{10}$ 芳基- $C_1 \sim C_4$ 烷基, R'' 为本领域适合做 PET 显像探针的多肽类、苯磺酰胺类或其他能被叠氮或端炔基团修饰的功能分子取代基。

[0013] R' 中,所述的 $C_1 \sim C_{12}$ 的直链烷基或支链烷基较佳的为如下任一基团:

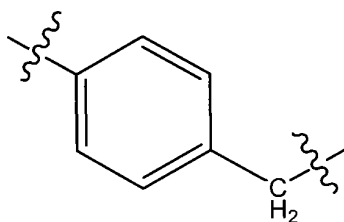
[0014]



[0015] $n = 0 \sim 8$, 优选 2 或 3;

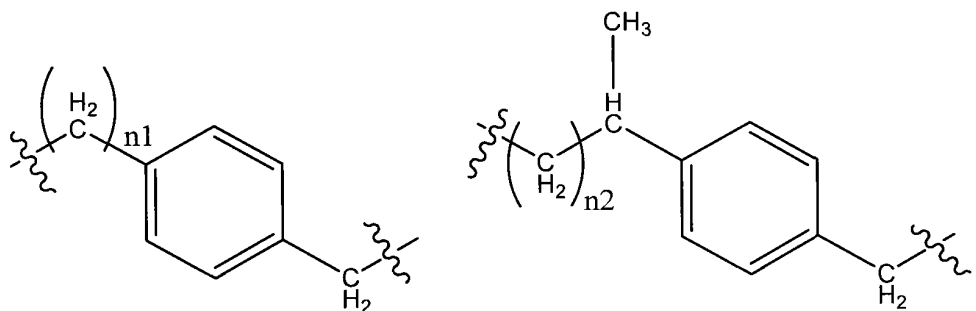
[0016] 所述的芳基- $C_1 \sim C_4$ 烷基较佳的为如下基团:

[0017]



[0018] 所述的 $C_1 \sim C_4$ 烷基- $C_6 \sim C_{10}$ 芳基- $C_1 \sim C_4$ 烷基较佳的为如下任一基团:

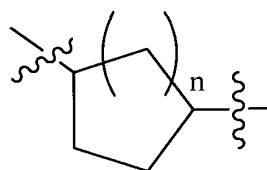
[0019]



[0020] 其中 $n_1 = 1 \sim 4$, $n_2 = 0 \sim 4$;

[0021] 所述的环烷基最佳的为如下基团:

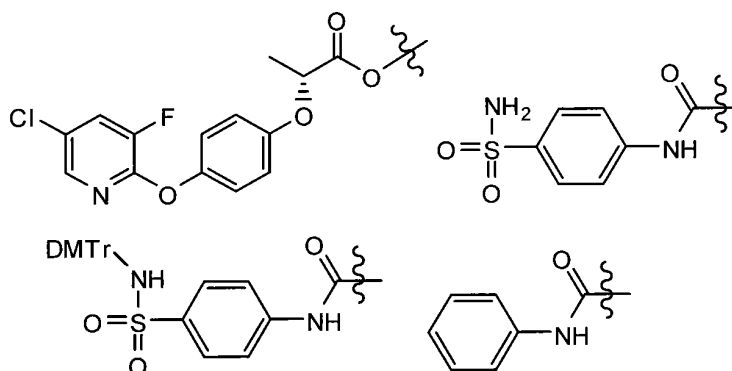
[0022]



[0023] 其中 $n = 1 \sim 3$;

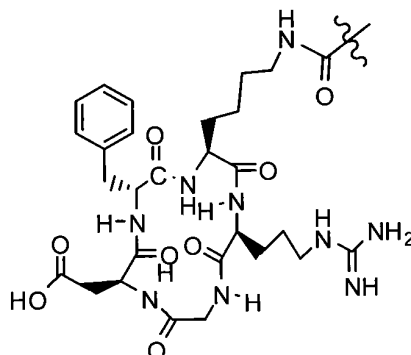
[0024] R”中,所述的适合做 PET 显像探针的功能分子取代基最佳的为如下任一基团、或者多肽类功能分子取代基(如 RGD 肽、或 Leu-Ala-Arg-Leu-Leu-Thr 肽,结构如下所示);等;

[0025]



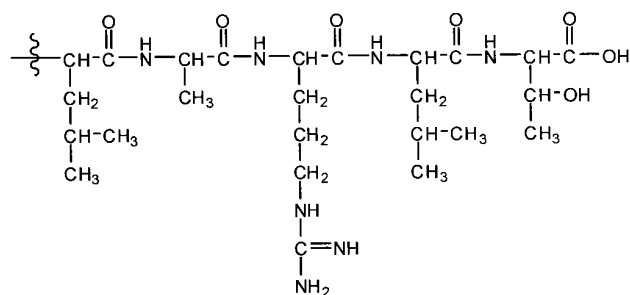
[0026] 所述的 RGD 肽为如下结构:

[0027]



[0028] 所述的 Leu-Ala-Arg-Leu-Leu-Thr 肽为如下结构:

[0029]



[0030] 较佳的,上述化合物 B 的沸点低于 200℃。

[0031] 方法一和方法二中,所述的 1,3-偶极环加成反应的方法和条件可为有机合成领域此类反应中所用的方法和条件,所述的 Cu(I) 为一价铜,一般以一价铜的盐的形式参与反应。

[0032] 本发明人经过大量实验,特别优选出下述方法和条件:

[0033] 方法一中,所述的 1,3-偶极环加成反应包含下列步骤:溶剂中,pH 为 3~12,在 Cu(I) 的催化下,将化合物 B 和 C 进行叠氮与端位炔基的 1,3-偶极环加成反应,即可。

[0034] 方法二中,所述的 1,3-偶极环加成反应包含下列步骤:溶剂中,pH 为 3~12,在 Cu(I) 的催化下,将化合物 F 和 G 进行叠氮与端位炔基的 1,3-偶极环加成反应,即可。

[0035] 方法一或二中,所述的 pH 较佳的为 6~8。所述的溶剂较佳的为水、叔丁醇、乙醇和四氢呋喃中的一种或多种,当 R' 为多肽类化合物分子取代基时,优选水为溶剂,化合物 B 或 F 与溶剂的摩尔体积比较佳的为 $(5.85 \times 10^{-14} \text{mol} \sim 5.85 \times 10^{-10} \text{mol}) / (0.2 \sim 1 \text{mL})$;或者化合物 B 或 F 在溶剂中的放射性活度较佳的为 1mCi~2Ci。当反应溶剂中含水时,其他有机溶剂的体积较佳的不超过水的体积。所述的化合物 C 或 G 在反应液中的浓度较佳的为 0.2~20mmol/L,更佳的为 3.8~7mmol/L。所述的 Cu(I) 的量较佳的为化合物 C 或 G 的摩尔量的 1 倍~20 倍,更佳的为 8 倍~15 倍。所述的 Cu(I) 在反应液中的浓度较佳的为 5mmol/L~100mmol/L。

[0036] 所述的 1,3-偶极环加成反应的温度可根据参与反应的化合物 C 或 G 的稳定性,以及采用的反应溶剂体系的沸点,适当调节温度上限,较佳的为 10~100℃,更佳的为 30~65℃。

[0037] 所述的 1,3-偶极环加成反应可以在很短的时间内完成,如 1~80 分钟,更佳的为 10~20 分钟。

[0038] 其中,所述的 pH 值可通过本领域常规方法进行调节,如加入所需 pH 范围的磷酸盐缓冲液。

[0039] 所述的 Cu(I) 可为有机领域中此类反应的 Cu(I) 的常见形式,本发明特别优选下述任一形式的 Cu(I) 来参与反应:

[0040] ①将二价铜的强酸盐和抗坏血酸或其强碱盐进行还原反应,制得 Cu(I);

[0041] ②碘化亚铜或溴化亚铜和弱碱性铜配体的溶液;

[0042] ③将 Cu(0) (如铜丝、铜粉或纳米铜颗粒等) 氧化,制得 Cu(I)。

[0043] 上述②中的 Cu(I) 效果更佳。

[0044] ①中,所述的二价铜的强酸盐可为硫酸铜、硝酸铜和氯化铜中的一种或多种,优选硫酸铜。所述的抗坏血酸的强碱盐可为抗坏血酸钠、抗坏血酸钾和抗坏血酸钙等中的一种

或多种,因为抗坏血酸钠比抗坏血酸易溶于水,比其他抗坏血酸盐常见且成本较低,优选抗坏血酸钠。所述的二价铜的强酸盐和抗坏血酸或其强碱盐的摩尔比较佳的为 1 : 1.1 ~ 1 : 3,更佳的为 1 : 1.5 ~ 1 : 1.8。

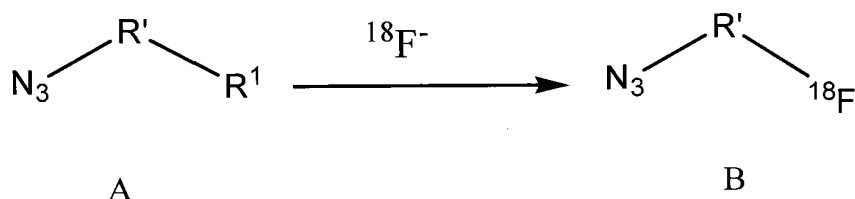
[0045] ②中,所述的弱碱性铜配体为能与 Cu(I) 形成配合离子的配体,较佳的为氨水、三乙胺或二异丙基乙胺;所述的碘化亚铜或溴化亚铜和弱碱性铜配体的摩尔比较佳的为 1 : 5 ~ 1 : 1000,更佳的为 1 : 100 ~ 1 : 300。所述的溶液中的溶剂较佳的为水或常规惰性有机溶剂。碘化亚铜或溴化亚铜在溶液中的浓度较佳的为 0.05mol/L ~ 1.5mol/L,更佳的为 0.4mol/L ~ 1.2mol/L。

[0046] ③中,所述的氧化可为通过空气中的氧气进行氧化,或者通过加入氧化剂(如硫酸铜)进行氧化。

[0047] 在上述 1,3-偶极环加成反应结束后,可按照本领域常规的后处理及提纯方法对产物进行提纯,如用放射性 HPLC 分离纯化,在用放射性 HPLC 分离纯化之前,也可先用 Sep-Pak C18 柱对产物进行纯化。

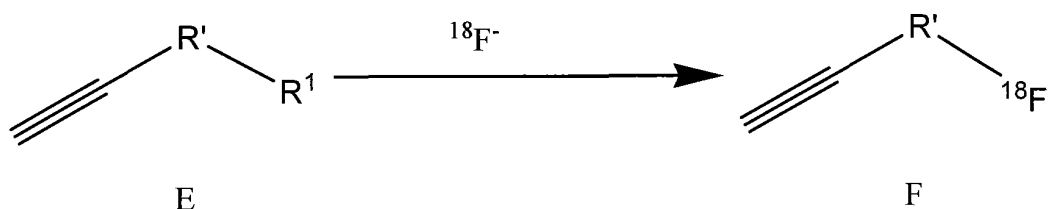
[0048] 本发明中,所述的化合物 B 可由下列方法制得:将化合物 A 和 $^{18}\text{F}^-$ 进行亲核取代反应,即可;

[0049]



[0050] 所述的化合物 F 可由下列方法制得:将化合物 E 和 $^{18}\text{F}^-$ 进行亲核取代反应,即可;

[0051]



[0052] 其中, R^1 为亲核取代反应中常用的离去基团,如 -OTs、-OMs 或 -OTf, R' 的定义同前所述。

[0053] 其中,所述的亲核取代反应的方法和条件可为本领域此类 ^{18}F 标记反应的常规方法和条件,本发明特别优选下述方法和条件:有机溶剂中,惰性气体保护下,将含有 K_{222} 、 K_2CO_3 和 $^{18}\text{F}^-$ 的混合物与化合物 A 或 E 进行亲核取代反应,即可。

[0054] 其中,所述的有机溶剂较佳的为无水乙腈、无水二甲基甲酰胺和无水二甲亚砜中的一种或多种,优选乙腈。所述的 K_{222} 和 K_2CO_3 的摩尔比较佳的为 1 : 3 ~ 7 : 1,更佳的为 1.3 : 1 ~ 3.3 : 1。 $^{18}\text{F}^-$ 的活度较佳的为 10 μCi ~ 2Ci,更佳的为 5mCi ~ 700mCi。化合物 A 或 E 在反应液中的浓度较佳的为 0.01 ~ 1mol/L,更佳的为 0.05 ~ 0.2mol/L。 K_{222} 和化合物 A 或 E 的质量比较佳的为 1 : 1 ~ 7 : 1,更佳的为 2 : 1-5 : 1。所述的惰性气体较佳的为氮气和 / 或氩气。所述的亲核取代反应的温度较佳的为 80 ~ 150 $^\circ\text{C}$ 。所述的亲核取代反应的时间较佳的为 2 ~ 15min。

[0055] 所述的含有 K_{222} 、 K_2CO_3 和 $^{18}F^-$ 的混合物可通过下述方法制得：用 K_{222} （即 Kryptofix 222）溶液淋洗富集 $^{18}F^-$ 的 QMA 柱，蒸干溶剂，即可。

[0056] 其中， K_{222} 溶液可通过下述方法制得：将 K_{222} ， K_2CO_3 ，乙腈和水配成溶液，即可。其中，各成分含量范围如下：每 1mL 乙腈中，有 30 ~ 150 μ L 水，1 ~ 7mg K_2CO_3 ，5 ~ 30mg K_{222} 。配置的方法可以为向 1mL 乙腈中加入 30 ~ 150 μ L 水，1 ~ 7mg K_2CO_3 ，5 ~ 30mg K_{222} ，即可。最常用的一种配比为：每 960 μ L 乙腈中，有 14.4mg K_{222} ，3mg K_2CO_3 ，40 μ L 水，各成分配成溶液即可。

[0057] 上述亲核取代反应完成后，可用本领域常规的后处理和提纯方法进行提纯。本发明优选下述提纯方法和条件：当化合物 B 或 F 的沸点低于 200 $^{\circ}C$ 时，向反应液中加入乙腈，以氮气作为载气，采用蒸馏方法分离杂质，收集化合物 B 或 F 的乙腈冷凝溶液。所述的蒸馏温度较佳的为 85 ~ 150 $^{\circ}C$ ，蒸馏时间较佳的为 5 ~ 30 分钟。

[0058] 在符合本领域常识的基础上，上述各优选条件，可任意组合，即得本发明各较佳实例。

[0059] 本发明所用试剂和原料均市售可得。

[0060] 本发明的积极进步效果在于：

[0061] 1、本发明的方法中，两步反应的产率都很高，且反应时间非常短。

[0062] 2、本发明的 ^{18}F 标记前体，即化合物 B 和 F 结构稳定，分离提纯方法简单。

[0063] 3、本发明可以快速高效的实现 ^{18}F 标记带有端炔基团的有机小分子、多肽、其他生物大分子、功能性材料或纳米微粒类化合物，方法具有通用性。

[0064] 4、本发明可以通过调整化合物 C 或 G 的结构，根据需求制备 PET 显像探针，并用于 PET 显像。

[0065] 5、本发明中所用到的碘化亚铜、硫酸铜、抗坏血酸钠、弱碱配体、铜等均为商品化试剂，原料廉价易得。

附图说明

[0066] 图 1 为实施例 2 的例二中以硫酸铜 / 抗坏血酸钠为催化体系的反应体系的 HPLC 谱图 (UV, 220nm)。

[0067] 图 2 为实施例 2 的例二中以碘化亚铜 / 氨水为催化体系的反应体系的 HPLC 谱图 (UV, 220nm)。

[0068] 图 3 为实施例 2 的例二中以硫酸铜 / 抗坏血酸钠为催化体系的反应过程中的放射性检测 HPLC 谱图 (反应 5min)。

[0069] 图 4 为实施例 2 的例二中以碘化亚铜 / 氨水为催化体系的反应过程中的放射性检测 HPLC 谱图 (反应 5min)。

[0070] 图 5 为实施例 2 的例二中以硫酸铜 / 抗坏血酸钠为催化体系反应结束后的放射性检测 HPLC 谱图 (反应 15min)。

[0071] 图 6 为实施例 2 的例二中以碘化亚铜 / 氨水为催化体系反应结束后的放射性检测 HPLC 谱图 (反应 15min)。

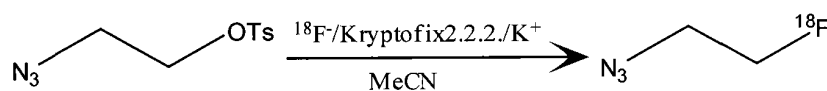
具体实施方式

[0072] 下面通过实施例的方式进一步说明本发明,但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,按照常规方法和条件,或按照商品说明书选择。

[0073] p-[¹⁸F]FSTC、[¹⁸F]F-cRGDFK 和 [¹⁸F]F-Clodinafop 等的合成:

[0074] 实施例 12- 叠氮 -1-[¹⁸F] 氟乙烷的放射性合成

[0075]



[0076] 20mCi ¹⁸F⁻ 被季铵型阴离子柱 QMA (美国 Waters 公司产品, ¹⁸F⁻ 由上海市复旦大学附属肿瘤医院和科兴药业有限公司提供) 捕获后,取 1.2mLK₂₂₂ (即 Kryptofix 222) 溶液 (17.3mgK₂₂₂, 3.6mgK₂CO₃, 1152 μL 乙腈, 48 μL 水配成的溶液) 将 ¹⁸F 冲洗到反应瓶中,反应瓶浸入 95°C 的油浴,氮气吹干,然后再加入 500 μL 无水乙腈吹干,重复无水乙腈吹干两次;然后将 5mg 2-叠氮乙基对甲苯磺酸酯溶解于 400 μL 无水乙腈溶液,氮气保护下迅速加入反应瓶,95°C 下密闭反应 5min,停止反应,冰水浴冷却。标记率可达 97% 以上。

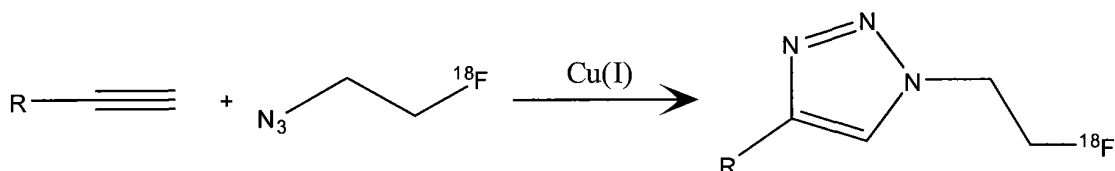
[0077] 向反应液中补加乙腈 200 μL,氮气辅助载流,进行蒸馏,并收集冷凝液,蒸馏 10-20min,蒸馏效率可达到 79.5%。

[0078] 含 2-叠氮 -1-[¹⁸F] 氟乙烷的乙腈冷凝收集液 (约 600 μL) 可用于下步标记反应中。

[0079] 该步骤的放化产率可达 70% 以上。

[0080] 实施例 2 采用含有叠氮基团的 ¹⁸F 化合物来实现带有端炔基团的功能分子的标记

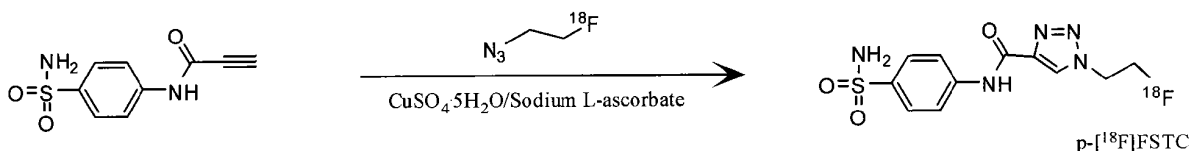
[0081]



[0082] 【例一】、通过 1,3-偶极环加成反应实现有机小分子化合物的 ¹⁸F 标记

[0083] 本例选择化合物 4-氨基苯磺酰胺作为有机小分子模型。该结构的小分子能靶向肿瘤缺氧时表达异常的碳酸酐酶 9 (CAIX),因此 p-[¹⁸F]FSTC (1-(2-[¹⁸F] 氟乙)-N-(4-磺酰胺基苯基)-1H-1,2,3-三氮唑-4-酰胺) 有潜力成为肿瘤缺氧的 PET 显像探针。

[0084]



[0085] 氮气保护下,向 100 μL 0.10mol/L pH6.0 磷酸盐 (PBS) 缓冲液中,依次加入 50 μL 0.45mol/L 硫酸铜溶液和 100 μL 1.50mol/L 抗坏血酸钠溶液,4-丙炔酰胺基苯磺酰胺 (5mg, 22.5 μmol) 的 150 μL DMF 和 100 μL t-BuOH 溶液,以及上一步制得的 2-叠氮 -1-[¹⁸F] 氟乙烷的乙腈溶液 300 μL (也可使用未蒸馏前的溶液体系)。在 35°C 振荡反应 15min,加水 10mL 稀释,用 Sep-Pak C18 柱纯化得到粗产物,再用半制备高效液相系统纯化目标产物 (美国 Dionex 公司 P680summit HPLC 分析系统,半制备柱为 LoChrosorb C18:10 μm,

300mm×7.8mm。流动相为水 (A) 和乙醇 (B), 梯度分离条件为 :0-5-10-40-45min, 5% → 5% → 20% → 20% → 5% B。流速 1.5mL/min, 经过 UV(254nm) 检测和放射性检测。)

[0086] 放射性 HPLC 分析显示, 该实验的标记率 > 98%, p-[¹⁸F]FSTC 的保留时间 $t_R = 13.4\text{min}$, 放射化学纯度 > 98%, 收率 > 96% (衰败校正后)。

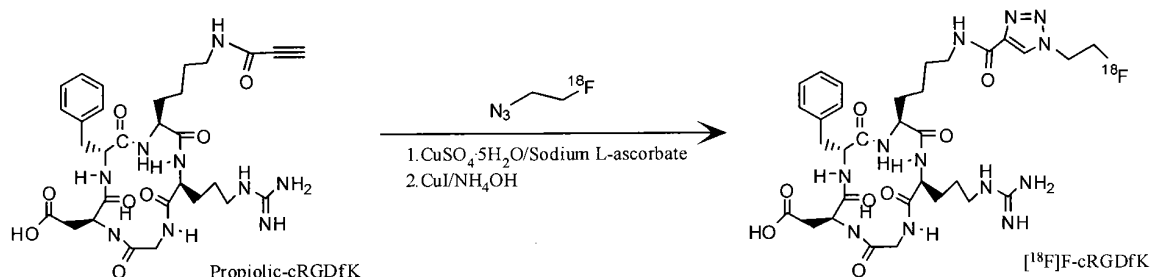
[0087] 【例二】、通过 1,3- 偶极环加成反应实现多肽的 ¹⁸F 标记 :

[0088] 本例选用 cRGDfK 作为多肽模型。研究表明其原型多肽 cRGDfK 对肿瘤新生血管有一定的靶向性, 因此 [¹⁸F]FcRGDfK 也是一种有潜力的 PET 显像探针。

[0089] 通过多肽的 ¹⁸F 标记, 验证 1,3- 偶极环加成标记方法通用性和有效性。

[0090] 并通过两种催化剂的使用, 证明催化剂体系的多样性。

[0091]



[0092] 硫酸铜 / 抗坏血酸钠催化体系 : 将 2mg 丙炔酸修饰的 cRGDfK 溶于 200 μ L pH6.0 磷酸缓冲液和 200 μ L 叔丁醇的混合溶液, 先后加入 50 μ L 0.4M 硫酸铜和 100 μ L 1.2M 抗坏血酸钠溶液, 再加入蒸馏冷凝得到的 2- 叠氮 -1-[¹⁸F] 氟乙烷乙腈溶液 200 μ L, 50 $^{\circ}$ C 反应 5min, 用放射性 HPLC (美国 Agilent 1100HPLC 系统, 半制备柱为 Waters C18column : 7.3mm×300mm。流动相为添加了 0.1% 三氟乙酸的水 (A) 和乙腈 (B), 梯度分离条件为 : 0-20min, 5% → 50% B。流速为 2.0mL/min。经过 UV(220nm) 检测和放射性检测) 检测, 见图 3, 所关注的放射性产物出峰时间为 $t_1 = 11.2\text{min}$ (90.1%), $t_2 = 14.8\text{min}$ (9.9%)。反应 15min 后, 标记率接近 100%。产物用放射性 HPLC 分离纯化 (美国 Agilent 1100HPLC 系统, 半制备柱为 Waters C18column : 7.3mm×300mm。流动相为添加了 0.1% 三氟乙酸的水 (A) 和乙腈 (B), 梯度分离条件为 : 0-20min, 5% → 50% B。流速为 2.0mL/min。经过 UV(220nm) 检测和放射性检测)。

[0093] 放射性 HPLC 分析 (美国 Agilent 1100HPLC 系统, 半制备柱为 Waters C18column : 7.3mm×300mm。流动相为添加了 0.1% 三氟乙酸的水 (A) 和乙腈 (B), 梯度分离条件为 : 0-20min, 5% → 50% B。流速为 2.0mL/min。经过 UV(220nm) 检测和放射性检测) (见图 5) 显示, 该实验的标记率 > 98%, [¹⁸F]cRGDfK 的保留时间 $t_R = 14.8\text{min}$, 放射化学纯度 > 97% (98.1%), 收率 > 95% (衰败校正后)。

[0094] 对上述的反应体系进行 HPLC 检测, HPLC 条件为 : 0-20min, 5% → 50% B (A : 含 0.1% 三氟乙酸的水 ; B : 含 0.1% 三氟乙酸的和乙腈 ; 流速为 2.0mL/min。结果见图 1。由图 1 可看到, 在 7.5min-17.5min 时间范围内有吸收值很高宽度很大的峰, 会影响所关注的放射性产物 ($t_1 = 11.2\text{min}$, $t_2 = 14.8\text{min}$) 的分离。

[0095] 碘化亚铜 / 氨水催化体系 : 将 2mg 丙炔酸修饰的 cRGDfK 溶于 200 μ L pH6.0 磷酸缓冲液中, 加入 40 μ L 0.5M 碘化亚铜氨水溶液, 再加入蒸馏冷凝得到的 2- 叠氮 -1-[¹⁸F] 氟乙烷乙腈溶液 200 μ L, 50 $^{\circ}$ C 反应 5min, 用放射性 HPLC (美国 Agilent 1100HPLC 系统, 半制备

柱为 Waters C18column :7.3mm×300mm。流动相为添加了 0.1% 三氟乙酸的水 (A) 和乙腈 (B), 梯度分离条件为 :0-20min, 5% → 50% B。流速为 2.0mL/min。经过 UV(220nm) 检测和放射性检测) 检测, 见图 4, 所关注的放射性产物出峰时间为 $t_1 = 11.2\text{min}$ (68.4%), $t_2 = 14.8\text{min}$ (31.6%)。反应 15min 后, 冷却后用放射性 HPLC 分离纯化产物 [^{18}F]cRGDFK (分离条件同前)。

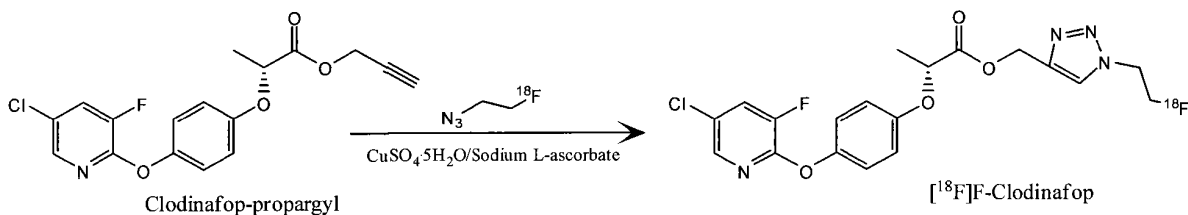
[0096] 放射性 HPLC 分析 (美国 Agilent 1100HPLC 系统, 半制备柱为 WatersC18column : 7.3mm×300mm。流动相为添加了 0.1% 三氟乙酸的水 (A) 和乙腈 (B), 梯度分离条件为 : 0-20min, 5% → 50% B。流速为 2.0mL/min。经过 UV(220nm) 检测和放射性检测) (见图 6) 显示, [^{18}F]cRGDFK 的出峰时间为 $t_r = 14.8\text{min}$ (92.2%), 该实验的标记率 > 92%。

[0097] 对上述的反应体系进行 HPLC 检测, HPLC 条件为 :0-20min, 5% → 50% B (A : 含 0.1% 三氟乙酸的水 ; B : 含 0.1% 三氟乙酸的乙腈 ; 流速为 2.0mL/min。结果见图 2。由图 2 可看到, 未有干扰宽峰的存在。该优势能提高反应过程监测的清晰度, 还能保证在进行放射性分离时, 将不会引入过多的杂质 (即其他有紫外吸收峰的物质), 提高产物的比活度。

[0098] 【例三】、通过 1,3- 偶极环加成反应实现任意含有末端炔基化合物的 ^{18}F 标记 :

[0099] 本实例选择化合物炔草酯 ((R)-2-[4-(5-氯-3-氟-2-吡啶氧基) 苯氧基] 丙酸炔丙基酯, Clodinafop-propargyl) 作为含有末端炔基化合物的模型。

[0100]

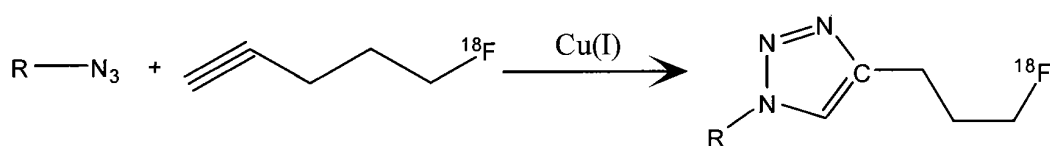


[0101] 氮气保护下, 向 100 μL 0.10mol/L pH6.0 磷酸盐 (PBS) 缓冲液中, 依次加入 50 μL 0.45mol/L 硫酸铜溶液和 100 μL 0.50mol/L 抗坏血酸钠溶液, 炔草酯 (5mg, 14.3 μmol) 的 150 μL DMF 和 100 μL *t*-BuOH 溶液, 以及上一步制得的 2-叠氮-1- ^{18}F 氟乙烷的乙腈溶液 300 μL (也可使用未蒸馏前的溶液体系)。在 35 $^{\circ}\text{C}$ 振荡反应 15min, 加水 10mL 稀释, 用 Sep-Pak C18 柱 (美国 Waters 公司) 纯化得到粗产物, 再用半制备高效液相系统纯化目标产物 [^{18}F]F-Clodinafop (美国 Agilent 1100HPLC 系统, 采用半制备柱进行分析, 柱型为 Waters C18column :7.3mm×300mm。流动相为添加了 0.1% 三氟乙酸的水 (A) 和乙腈 (B), 梯度分离条件为 :0-20min, 5% → 90% B。流速为 2.0mL/min。经过 UV(220nm) 检测和放射性检测)。

[0102] 放射性 HPLC 分析 (美国 Agilent 1100HPLC 系统, 采用半制备柱进行分析, 柱型为 Waters C18column :7.3mm×300mm。流动相为添加了 0.1% 三氟乙酸的水 (A) 和乙腈 (B), 梯度分离条件为 :0-20min, 5% → 90% B。流速为 2.0mL/min。经过 UV(220nm) 检测和放射性检测) 显示, 该实验的标记率 > 96%, [^{18}F]F-Clodinafop 的保留时间 $t_r = 17.9\text{min}$, 放射化学纯度 > 99%, 收率 > 95% (衰败校正后)。

[0103] 实施例 3 采用含有端炔基团的 ^{18}F 化合物来实现带有叠氮基团的功能分子的标记

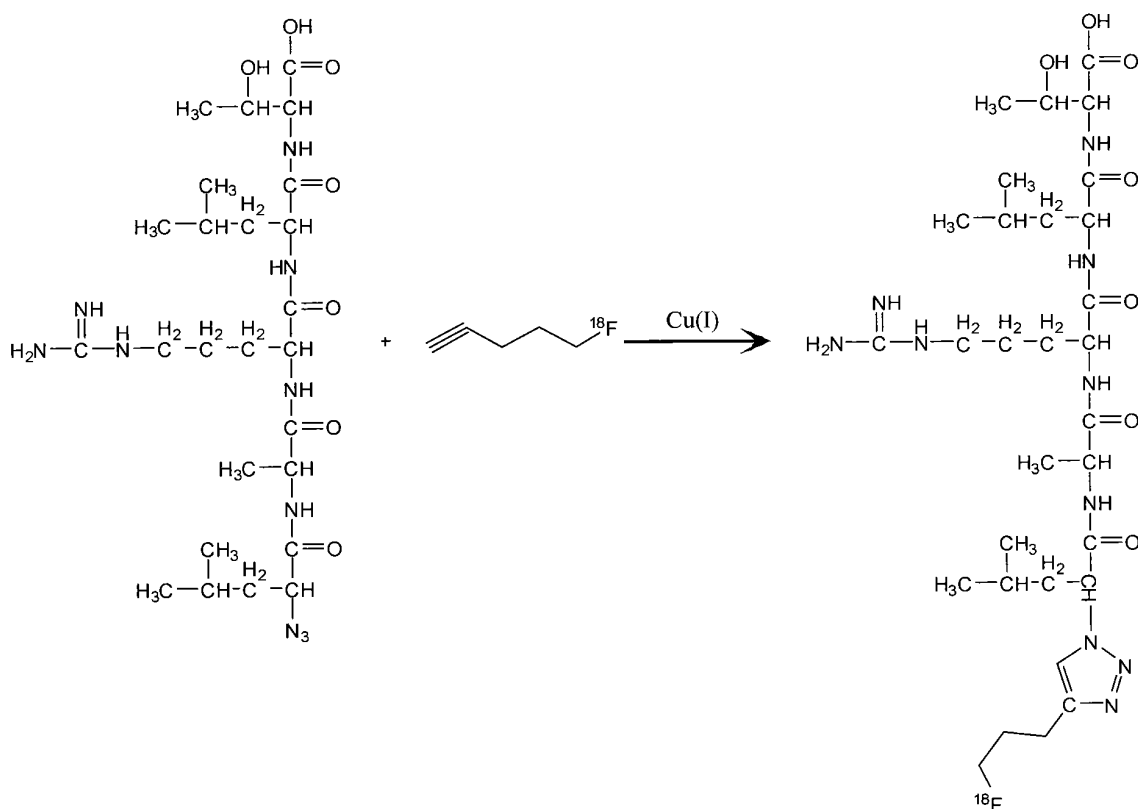
[0104]



[0105] 【例一】、通过 1,3- 偶极环加成反应实现叠氮修饰的多肽的 ^{18}F 标记：

[0106] 本实例选择叠氮修饰的 Leu-Ala-Arg-Leu-Leu-Thr 肽作为含有叠氮修饰多肽的模型。Leu-Ala-Arg-Leu-Leu-Thr 肽是能特征结合表皮生长因子 EGFR 的新型肽配体，可用于肿瘤靶向。

[0107]



[0108] 将 2mg 叠氮修饰的 Leu-Ala-Arg-Leu-Leu-Thr 肽 (8.4 μmol) 溶于 200 μL pH6.0 磷酸缓冲液和 200 μL 叔丁醇的混合溶液，先后加入 50 μL 0.4M 硫酸铜和 100 μL 1.2M 抗坏血酸钠溶液，再加入蒸馏冷凝得到的 5- ^{18}F 氟戊炔的乙腈溶液 200 μL ，50 $^{\circ}\text{C}$ 反应 25min。产物用 HPLC 检测（美国 Agilent 1100HPLC 系统，分析柱为 Zorbax C18column (4.6mm \times 250mm)。流动相为添加了 0.1% 三氟乙酸的水 (A) 和乙腈 (B)，梯度分离条件为：0-20min, 5% \rightarrow 90% B。流速为 1.0mL/min。经过 UV(220nm) 检测和放射性检测。)

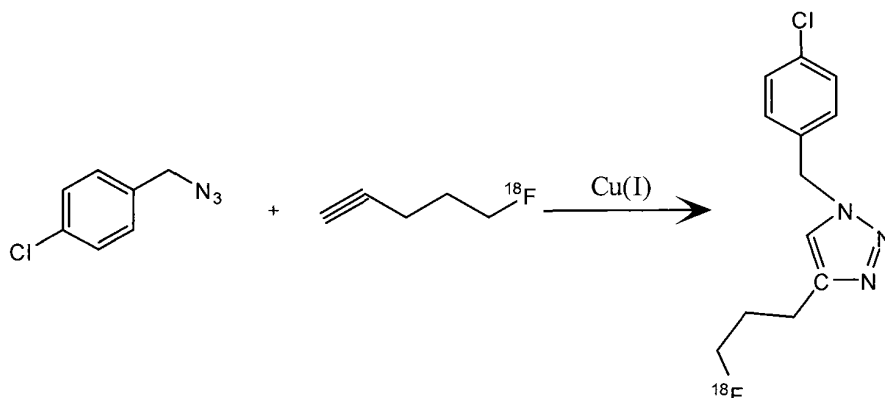
[0109] 放射性 HPLC 分析显示，该实验的标记率 > 93%，

[0110] ^{18}F -Leu-Ala-Arg-Leu-Leu-Thr 的保留时间 $t_{\text{R}} = 13.1\text{min}$ 。

[0111] 【例二】、通过 1,3- 偶极环加成反应实现带有叠氮基团的小分子化合物的 ^{18}F 标记：

[0112] 本实例选择对氯苄基叠氮作为含有叠氮基团的小分子化合物模型。

[0113]

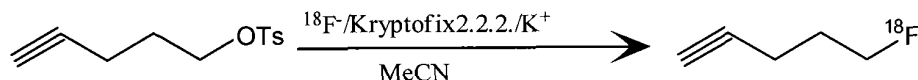


[0114] 将 10mg 对氯苄基叠氮 (59.3 μmol) 溶于 50 μL 乙腈溶液, 先后加入 50 μL 0.4M 硫酸铜和 100 μL 1.2M 抗坏血酸钠溶液, 再加入蒸馏冷凝得到的 5-[^{18}F] 氟戊炔的乙腈溶液 200 μL , 50 $^{\circ}\text{C}$ 反应 15min。产物用 HPLC 检测 (美国 Agilent 1100HPLC 系统, 分析柱为 Zorbax C18column (4.6mm \times 250mm)。流动相为添加了 0.1% 三氟乙酸的水 (A) 和乙腈 (B), 梯度分离条件为 :0-20min, 5% \rightarrow 90% B。流速为 1.0mL/min。经过 UV (220nm) 检测和放射性检测。)

[0115] 放射性 HPLC 分析显示, 该实验的标记率 > 63%, [^{18}F]F- 对氯苄基氟的保留时间 $t_{\text{R}} = 15.7$ 。

[0116] 实施例 45-[^{18}F] 氟戊炔的放射性合成

[0117]



[0118] 20mCi $^{18}\text{F}^-$ 被季铵型阴离子柱 QMA (美国 Waters 公司产品, $^{18}\text{F}^-$ 由上海市复旦大学附属肿瘤医院和科兴药业有限公司提供) 捕获后, 取 1.2mLK₂₂₂ (即 Kryptofix 222) 溶液 (17.3mgK₂₂₂, 3.6mgK₂CO₃, 1152 μL 乙腈, 48 μL 水配成的溶液) 将 ^{18}F 冲洗到反应瓶中, 反应瓶浸入 95 $^{\circ}\text{C}$ 的油浴, 氮气吹干, 然后再加入 500 μL 无水乙腈吹干, 重复无水乙腈吹干两次; 然后将 5mg 5-对甲苯磺酰戊炔溶解于 400 μL 无水乙腈溶液, 氮气保护下迅速加入反应瓶, 95 $^{\circ}\text{C}$ 下密闭反应 5min, 停止反应, 冰水浴冷却。标记率可达 96% 以上。

[0119] 向反应液中补加乙腈 200 μL , 氮气辅助载流, 用图 1 所示的自制蒸馏装置 (按照常规蒸馏知识搭建) 蒸馏, 并收集冷凝液, 蒸馏 10-20min, 蒸馏效率可达到 79.5%。

[0120] 含 5-[^{18}F] 氟戊炔的乙腈冷凝收集液 (约 600 μL) 可用于下步标记反应中。

[0121] 该步骤的放化产率可达 70% 以上。

[0122] 上述实施例中涉及的三种 ^{18}F 标记化合物 2-叠氮-1-[^{18}F] 氟乙烷、p-[^{18}F]FSTC 和 [^{18}F]cRGDFK 的结构是通过与其对应的参比化合物 2-叠氮-1-[^{19}F] 氟乙烷 p-[^{19}F]FSTC 和 [^{19}F]cRGDFK 进行对比得以确定。具体确认方法为: 将 ^{18}F 标记化合物与其参比化合物混合后同时进行 HPLC 检测, 通过对 HPLC 的紫外峰出峰时间和放射性峰出峰时间进行对比 (由于放射性检测器连接在紫外检测器之后, 其信号存在固定的时间差), 出峰时间差值固定, 则认为它们结构是一致的。三种参比化合物为实验室合成, 结构经由 ^1H NMR、IR、MS 等检测。

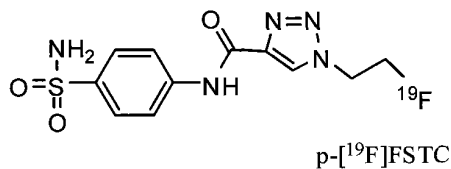
[0123] 使用的参比化合物结构如下:

[0124] 2-叠氮-1-[^{18}F] 氟乙烷

[0125] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ : 4.685 ~ 4.498 (dt, 2H, $\text{CH}_2\text{-F}$, $^2J_{\text{FH}} = 47\text{Hz}$, $^2J_{\text{HH}} =$

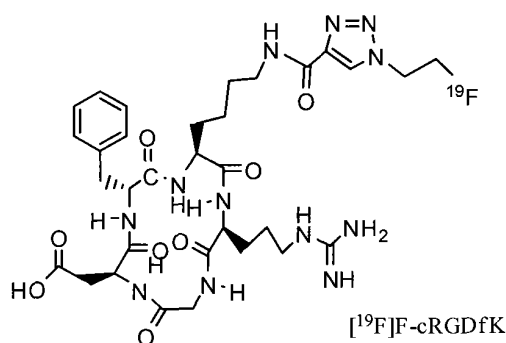
4.5Hz) ;3.579 ~ 3.456(dt, 2H, CH₂-CH₂-F, ³J_{FH} = 27Hz, ²J_{HH} = 4.5Hz). Analytical HPLC, t = 11.1min, and t_(DMF) = 5.4min.

[0126]



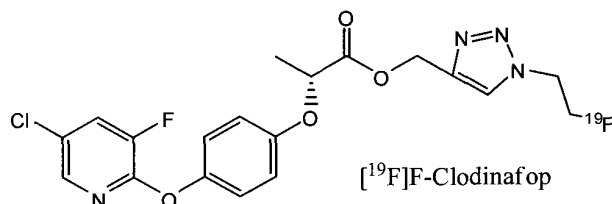
[0127] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ :2.450(3H, CH₃-) ;3.470-3.496(2H, NCH₂) ; 4.148-4.175(2H, SCH₂) ;7.357-7.829(4H). IR(KBr) ν :5556667128139151013 1095 1176 1299 1364 1458 1579 2112 2925 2962cm⁻¹. Analytical HPLC, t = 13.2min.

[0128]



[0129] ESI-MS(M+H = 745.2)。HPLC(t = 14.6min)。

[0130]



[0131] ¹HNMR(300MHz, CDCl₃) δ :1.594 ~ 1.618(3H, CH₃-CH) ;4.592-4.661, (5H, CH-O, -CH₂-CH₂-) ;5.296-5.326(2H, -CH₂-O-) ;6.844-7.855(7H). Analytical HPLC, t = 17.7min.

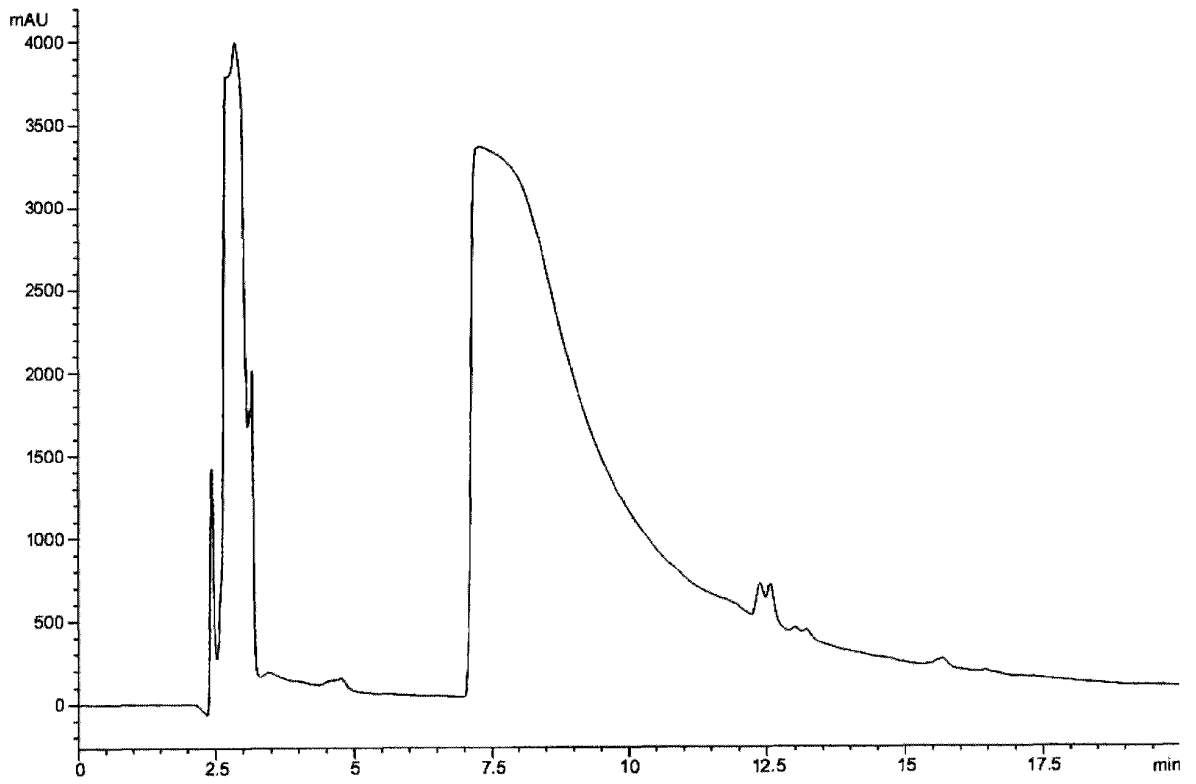


图 1

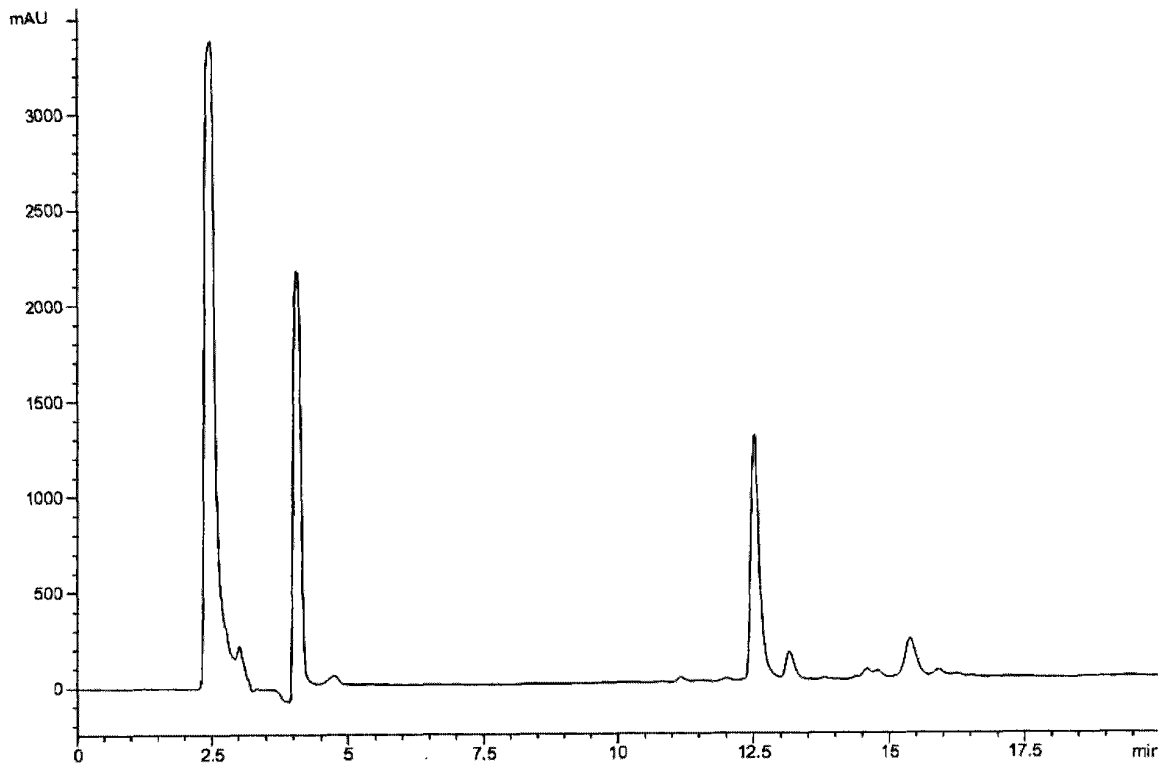


图 2

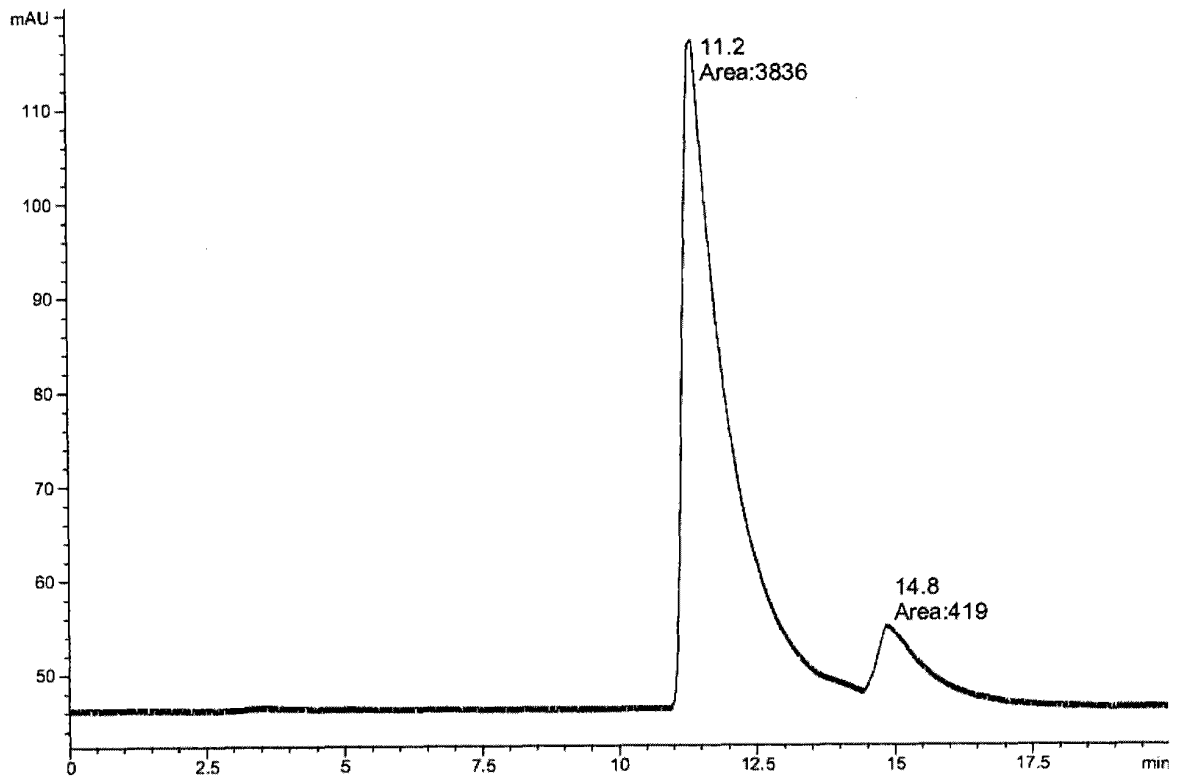


图 3

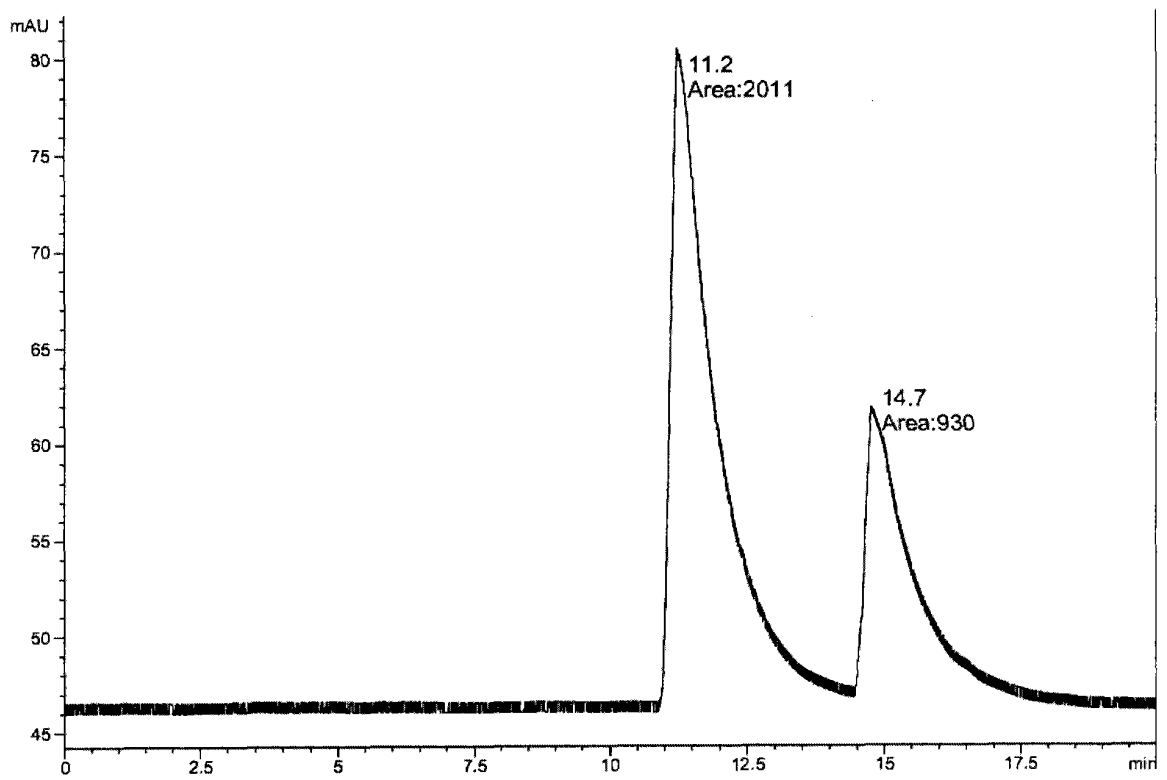


图 4

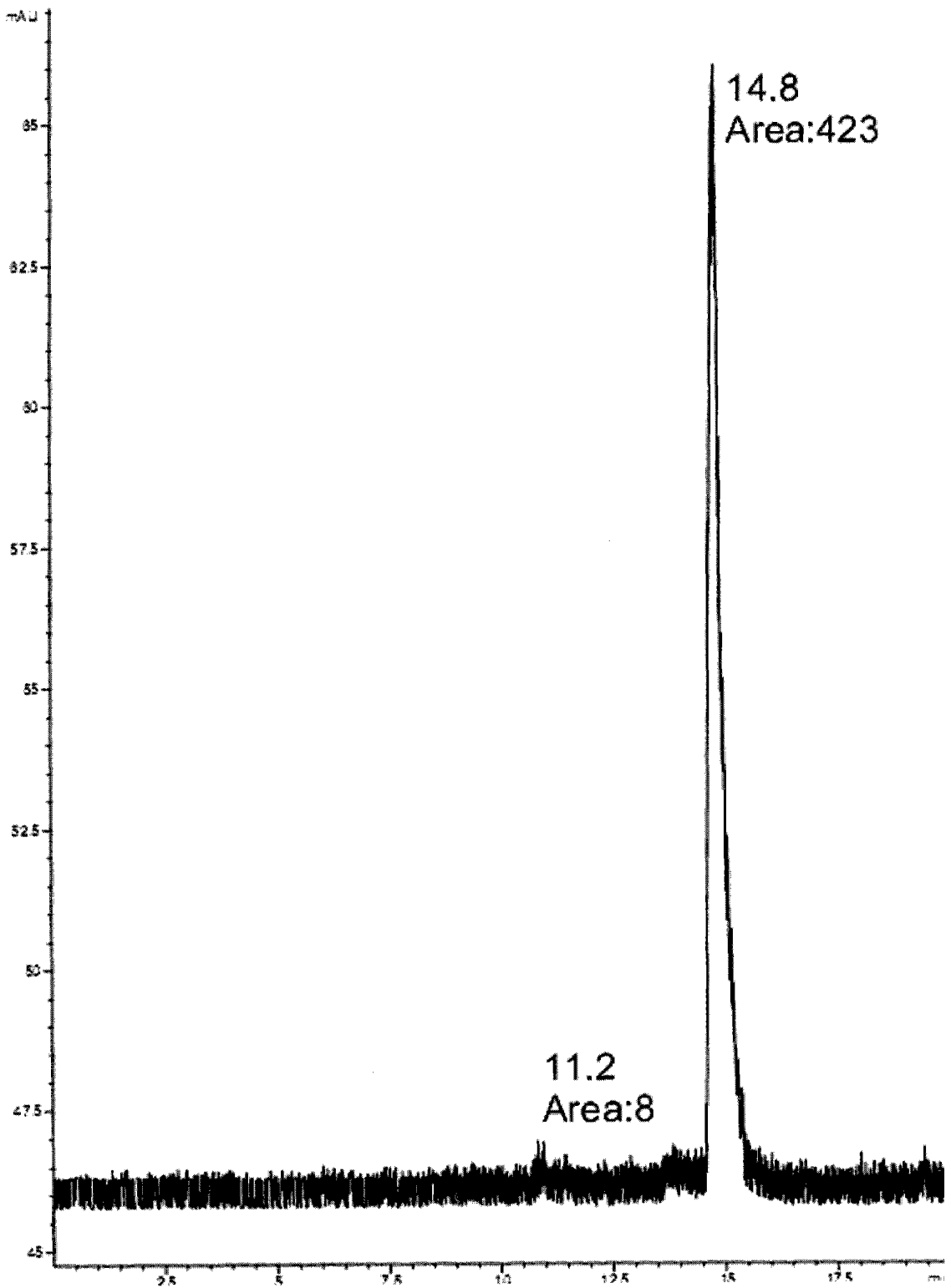


图 5

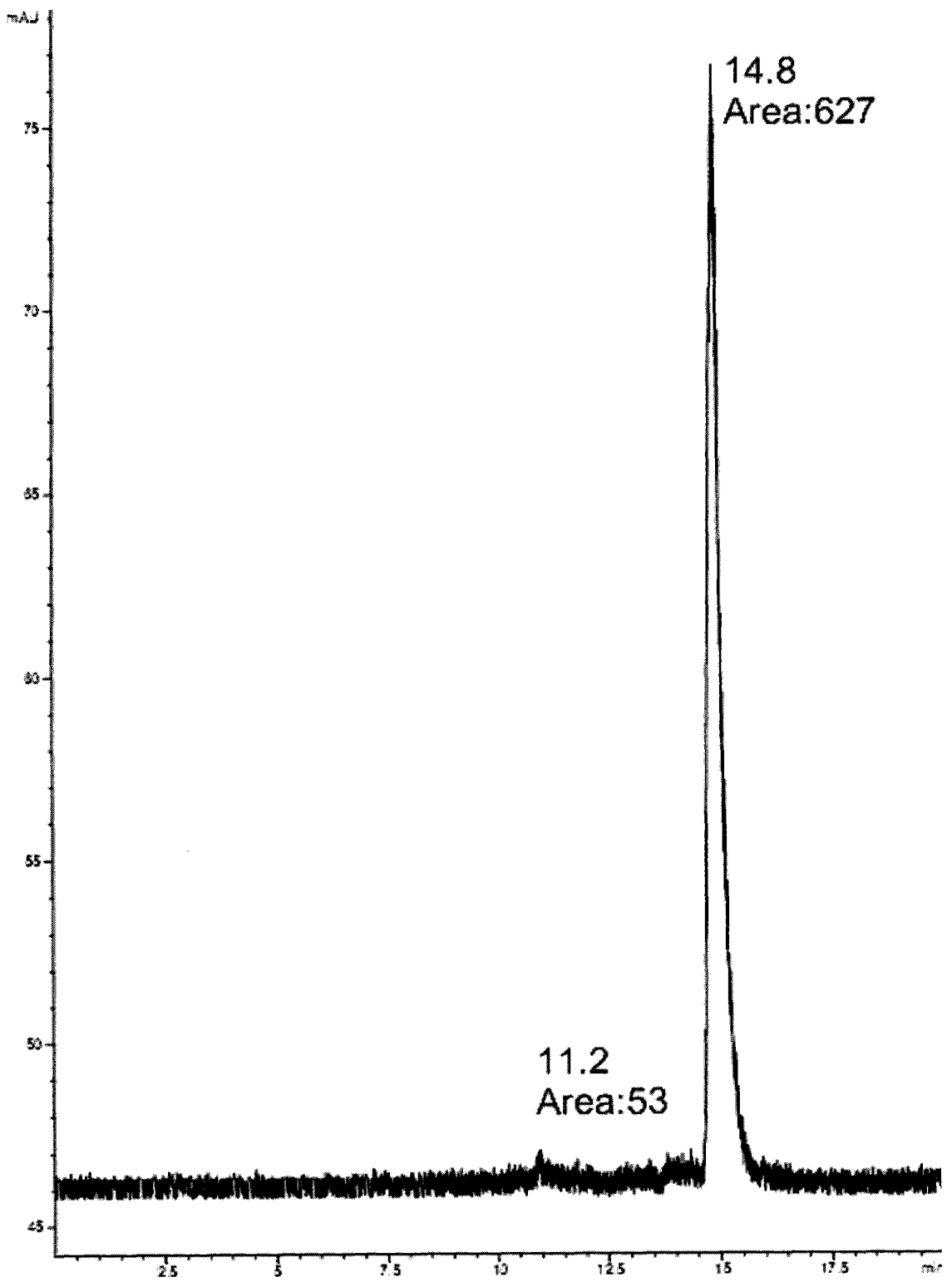


图 6