

· 基础研究 ·

靶向大麻素 1 型受体的 PET 显像剂¹⁸F-JR-1001 的制备与评价

毛迪龙¹ 徐洋洋¹ 陈俊威¹ 何万里¹ 金晨涛² 马晓芬³张宏² 魏毅¹ 曹淑霞⁴ 陈巧珍⁵ 和庆钢¹

¹浙江大学化学工程与生物工程学院, 杭州 310058; ²浙江大学医学院附属第二医院核医学科及 PET-CT 中心, 杭州 310009; ³广东省第二人民医院核医学科, 广州 510080; ⁴浙江大学医学院附属邵逸夫医院, 杭州 310016; ⁵浙江大学医学院附属第二医院精神科, 杭州 310009

通信作者: 和庆钢, Email: qghe@zju.edu.cn; 张宏, Email: hzhang21@zju.edu.cn; 曹淑霞, Email: shuxiacao@zju.edu.cn

【摘要】 目的 制备((2-(2-氯苯基)-3-(4-((2-¹⁸F-氟乙基)氧基)苯基)-5,6,7,8-四氢氧杂环庚烷并[3,2-c]吡唑-8-基)氨基)甲烷酸甲酯(¹⁸F-JR-1001), 评价其与大麻素 1 型受体(CB1R)结合的能力。**方法** 利用融合型自动合成仪制备¹⁸F-JR-1001, 测定其放射化学产率、摩尔活度。同时行细胞特异性摄取、脂水分配系数(log *P*)、竞争性结合、体外稳定性实验。建立喂养 Rimonabant 构建占据 CB1R 大鼠模型(阻断组), 对阻断组、正常 SD 大鼠行放射自显影及 microPET/CT 显像, 观察¹⁸F-JR-1001 在各脑区的摄取, 评估其血-脑屏障穿透能力。**结果** 合成的¹⁸F-JR-1001 衰变校正后的放射化学产率为(32.5±9.2)% (*n* = 10), 摩尔活度为(194.6±67.3) GBq/μmol。细胞实验示¹⁸F-JR-1001 对 CB1R 具有特异性, log *P* = 3.40±0.11 (*n* = 3), 半抑制浓度为 0.975 nmol/L。37 °C 放置 3 h 内, ¹⁸F-JR-1001 在生理盐水和大鼠血液中的放化纯维持在 92% 以上, 且没有明显的放射性副产物峰。放射自显影示阻断组的全脑摄取值为正常 SD 大鼠的 65.6%; microPET/CT 显像示, ¹⁸F-JR-1001 在阻断组全脑摄取均值为 0.470 6, 低于正常 SD 大鼠的全脑摄取均值 1.056 1。同时, microPET/CT 连续扫描 60 min 示¹⁸F-JR-1001 具有较好的血-脑屏障穿透能力。**结论** 合成的¹⁸F-JR-1001 符合生产和应用的要求, 并经体外实验、microPET/CT 显像及放射自显影表明了其作为 CB1R 靶向显像剂应用的潜力。

【关键词】 神经系统; 放射性药物; 氟放射性同位素; 受体, 大麻酚, CB1; 正电子发射断层显像术; 大鼠; JR-1001

基金项目: 国家自然科学基金委重大仪器专项(32027802); 浙江省“领雁”研发攻关计划基金项目(2022C03071)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240905-00313

Preparation and evaluation of PET tracer ¹⁸F-JR-1001 targeting cannabinoid type 1 receptor

Mao Dilong¹, Xu Yangyang¹, Chen Junwei¹, He Wanli¹, Jin Chentao², Ma Xiaofen³, Zhang Hong², Wei Yi¹, Cao Shuxia⁴, Chen Qiaozhen⁵, He Qinggang¹

¹School of Chemical Engineering and Biological Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

²Department of Nuclear Medicine and PET-CT Center, the Second Affiliated Hospital of Zhejiang University

School of Medicine, Hangzhou 310009, China; ³Department of Nuclear Medicine, Second People's Hospital of

Guangdong Province, Guangzhou 510080, China; ⁴Sir Run Run Shaw Hospital, Zhejiang University School

of Medicine, Hangzhou 310016, China; ⁵Department of Psychiatry, the Second Affiliated Hospital of Zhejiang

University School of Medicine, Hangzhou 310009, China

Corresponding authors: He Qinggang, Email: qghe@zju.edu.cn; Zhang Hong, Email: hzhang21@zju.edu.cn; Cao Shuxia, Email: shuxiacao@zju.edu.cn

【Abstract】 Objective To prepare ((2-(2-chlorophenyl)-3-(4-((2-¹⁸F-fluoroethyl)oxy)phenyl)-5,6,7,8-tetrahydrooxepino[3,2-c]pyrazol-8-yl)amino)methanoic acid methyl ester (¹⁸F-JR-1001) and evaluate its binding affinity to the cannabinoid type 1 receptor (CB1R). **Methods** ¹⁸F-JR-1001 was synthesized using an integrated automated synthesis module, and its radiochemical yield (RCY) and molar activity were determined. Cell-specific uptake, lipid-water partition coefficient (log *P*), competitive binding assays, and *in vitro* stability tests were performed. Rimonabant-fed rat models (blocking group) with pre-occupied CB1R were established. Radioautography and microPET/CT imaging were conducted on both the blocking

group and normal Sprague-Dawley (SD) rats to evaluate the brain uptake of ^{18}F -JR-1001 and its blood-brain barrier (BBB) penetration capability. **Results** The RCY of the synthetic ^{18}F -JR-1001 after decay correction was $(32.5 \pm 9.2)\%$ ($n=10$), with the molar activity of (194.6 ± 67.3) GBq/ μmol . Cell experiments demonstrated that ^{18}F -JR-1001 exhibited specificity for CB1R, with log P of 3.40 ± 0.11 ($n=3$) and half-maximal inhibitory concentration of 0.975 nmol/L. Within 3 h at 37 °C, the radiochemical purity of ^{18}F -JR-1001 in physiological saline and blood remained above 92%, with no significant radioactive by-product peaks observed. Radioautography showed that the whole brain uptake of ^{18}F -JR-1001 in the blocking group was 65.6% of that in normal SD rats. MicroPET/CT imaging showed that the mean whole brain uptake of ^{18}F -JR-1001 in the blocking group was 0.470 6, which was lower than that in normal SD rats (1.056 1). Additionally, continuous scanning for 60 min demonstrated that ^{18}F -JR-1001 exhibited good BBB penetration capability. **Conclusion** The synthesized ^{18}F -JR-1001 meets the requirements of production and application, and is proved the potential as a CB1R-targeted tracer in the *in vitro* experiments, microPET/CT imaging and radioautography.

【Key words】 Nervous system; Radiopharmaceuticals; Fluorine radioisotopes; Receptor, cannabinoid, CB1; Positron-emission tomography; Rats; JR-1001

Fund program: Special Fund for Basic Research on Scientific Instruments of the National Natural Science Foundation of China (32027802); Zhejiang Province "Lingyan" R & D Research Plan Fund Project (2022C03071)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20240905-00313

大麻素 1 型受体 (cannabinoid type 1 receptor, CB1R) 在整个神经系统中表达, 具有独特的药理和生理作用^[1-2], 被诸多研究者认为是疾病治疗和药物开发的中枢神经系统靶点^[3]。CB1R 在人脑中的密度很高, 特别是黑质、纹状体、壳核、杏仁核、海马和小脑^[4-5]。此外, CB1R 在外周神经和组织中也有丰富的表达, 如胃肠系统、脂肪组织、骨骼、皮肤以及一些癌症细胞^[6]。

尽管靶向 CB1R 的 PET 探针, 如 N -((1S, 2S)-2-(3-氰基苯基)-3-(4-(2- ^{18}F -氟乙氧基)苯基)-1-甲基丙基)-2-甲基-2-((5-甲基吡啶-2-基)氧基)丙酰胺 [N -((1S, 2S)-2-(3-cyanophenyl)-3-(4-(2- ^{18}F -fluoroethoxy)phenyl)-1-methylpropyl)-2-methyl-2-((5-methylpyridin-2-yl)oxy)propanamide, ^{18}F -MK-9470]^[7-8]、(3R, 5R)-5-(3- ^{18}F -氟苯基)-3-(((1R)-1-苯基乙基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)吡咯烷-2-酮 [(3R, 5R)-5-(3- ^{18}F -fluorophenyl)-3-(((1R)-1-phenylethyl)amino)-1-(4-(trifluoromethyl)phenyl)pyrrolidin-2-one, ^{18}F -FPATPP]^[9]、(3R, 5R)-5-(3-(^{18}F -氟甲氧基)苯基)-3-(((R)-1-苯乙基)氨基)-1-(4-(三氟甲基)苯基)吡咯烷-2-酮 [(3R, 5R)-5-(3-(^{18}F -fluoromethoxy)phenyl)-3-(((R)-1-phenylethyl)amino)-1-(4-(trifluoromethyl)phenyl)pyrrolidin-2-one, ^{18}F -FMPEP- d_2]^[10]等, 具有极佳的亲和力、适中的血-脑屏障穿透力、相对丰富的临床研究基础等特点, 但仍然存在易脱氟等问题。

本研究对 CB1R 有特异性的分子进行功能性改造, 利用全自动程序设置合成探针 ((2-(2-氯苯基)-3-(4-((2- ^{18}F -氟乙基)氧基)苯基)-5, 6, 7, 8-四氢氧杂环庚烷并[3, 2-c]吡唑-8-基)氨基)甲烷酸甲酯

[((2-(2-chlorophenyl)-3-(4-((2- ^{18}F -fluoroethyl)oxy)phenyl)-5, 6, 7, 8-tetrahydrooxepino[3, 2-c]pyrazol-8-yl)amino)methanoic acid methyl ester, ^{18}F -JR-1001], 并通过实验评价 ^{18}F -JR-1001 作为早期诊断抑郁症新型探针的潜力。

材料与方法

一、实验材料

1. 实验动物。雄性 SD 大鼠 21 只, 6 周龄, 体质量 (220 ± 10) g, 购于杭州医学院, 动物实验许可证号为 SYXK(浙)2022-0027, 在无特殊病原体环境中饲养, 动物实验经浙江大学实验动物福利伦理审查委员会批准(伦理审查号: ZJU20230491、ZJU20241155)。

2. 实验材料及试剂。前体 4-甲基苯磺酸-2-((4-(2-(2-氯苯基)-8-((甲氧基羰基)氨基)-5, 6, 7, 8-四氢氧杂环庚烷并[3, 2-c]吡唑-3-基)苯基)氧基)乙基酯 [4-methylbenzenesulfonate-2-((4-(2-(2-chlorophenyl)-8-((methoxy-carbonyl)amino)-5, 6, 7, 8-tetrahydrooxepino[3, 2-c]pyrazol-3-yl)phenyl)oxy)ethyl esters, TsO-JR-1001] 由本实验室制备; 无水乙腈、乙醇、抗坏血酸、生理盐水、三氟乙酸、二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO)、异氟烷、聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 300、Tween80 (美国 Sigma-Aldrich 公司); 正辛醇 (上海麦克林生化科技股份有限公司); 孕烯醇酮 (上海笛柏生物科技有限公司); Rimobant (河北沿程生物科技有限公司); PBS [英潍捷基 (上海) 贸易有限公司]。中国仓鼠卵巢 (Chinese Hamster Ovary, CHO) 细胞、EX-A1753-Lv242 质粒和 EX-A0463-Lv105 质粒采购于美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection, ATCC) 细胞库。

3. 实验仪器。CYPRIS HM-12 回旋加速器(日本住友重机械工业株式会社);依利特 P230 半制备高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)仪(大连依利特分析仪器有限公司);融合型自动合成仪 OnePlatform[®] V3.1s(杭州吉蕊科技有限公司);WIZARD2 γ 计数仪(美国 PerkinElmer 公司);Super-Argus microPET/CT 仪(西班牙赛德科医疗设备有限公司)。

二、实验方法

1. ^{18}F -JR-1001 的制备与质量控制。合成路线见图 1。经共沸蒸发得到干燥的 ^{18}F -KF, 加入前体 TsO-JR-1001。在密闭条件下, 110 $^{\circ}\text{C}$ 反应 5 min。反应结束后, 冷却至 40 $^{\circ}\text{C}$ 。HPLC 纯化, 并通过 C18 色谱柱对 ^{18}F -JR-1001 进行吸附, 乙醇、抗坏血酸生理盐水溶液冲洗 C18 柱, 得到 ^{18}F -JR-1001 溶液, 并用无菌滤膜过滤、输送到无菌样品瓶。利用 HPLC 测定放化纯, 并加入标准品 ^{19}F -JR-1001 进行同一性验证, 流动相为 $V(\text{乙腈}):V(\text{体积分数 } 0.05\% \text{ 三氟乙酸水溶液}) = 65:35$, 流速: 1 ml/min。按《中华人民共和国药典》2025 版中相关规定对 ^{18}F -JR-1001 溶液进行澄明度、pH 值、残留溶剂、无菌及内毒素等检查^[11]。

2. 体外细胞实验。用 EX-A1753-Lv242 质粒和 EX-A0463-Lv105 分别转染 CHO 细胞得到高表达的 CB1R(hCB1R)-CHO 细胞、高表达的 CB2R(hCB2R)-CHO 细胞, 在得到的 hCB1R-CHO 细胞培养基中加入 CB1R 抑制剂 Rimonabant, 得到经过 Rimonabant 处理后的 hCB1R-CHO 细胞。根据 Kilbourn 等^[12]的方法进行体外结合亲和度测试。根据 Singh 等^[13]的方法进行竞争性结合实验。细胞摄取率 = (细胞内摄取量/初始投加总量) $\times 100\%$ 。

3. 体外稳定性。取 1 ml 大鼠血液存储于抗凝管, 另取 1 ml 生理盐水作为对照组。向大鼠血液加入 ^{18}F -JR-1001 乙醇溶液(37 MBq)后在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下摇床温育 0、15、30、60、90、180 min, 在各时间点取 1.5 ml

并立即离心(离心半径 2.5 cm, 13 000 r/min, 5 min, 25 $^{\circ}\text{C}$)获得血浆上清液。血浆中加入 0.2 ml 乙腈沉淀其中的蛋白质, 再次离心获取上清液。使用 0.22 μm 的有机滤膜过滤后, 使用 HPLC 测定放化纯。生理盐水组重复以上操作。

4. 脂水分配系数 $\log P$ 的测定。将 20 μl ^{18}F -JR-1001 加入 50 μl DMSO 中, 与正辛醇(490 μl)及 PBS(490 μl)混合, 涡旋 5 min 后, 该混合溶液在 37 $^{\circ}\text{C}$ 摇床中放置过夜, 次日 25 $^{\circ}\text{C}$ 下离心(离心半径 2.5 cm, 13 000 r/min, 10 min)。随后分别在两相中取出 30 μl (3×10 μl), 利用 γ 计数仪检测放射性计数。脂水分配系数 $\log P = \log[(\text{有机相计数} - \text{本底计数})/(\text{水相计数} - \text{本底计数})]$, 取平均值。

5. 放射自显影。将配置好的 Rimonabant 溶液 0.3 ml (15 mg/ml) 通过灌胃的方式喂养大鼠, 定时定点连续喂养 14 d。其中, Rimonabant 溶液即 15 mg Rimonabant 溶解在 100 μl DMSO、400 μl PEG300、50 μl Tween80、450 μl 生理盐水配置的 1 ml 溶剂中。孕烯醇酮和 Rimonabant(两者均为 CB1R 拮抗剂)的喂养方式相同, 构建占据 CB1R 大鼠模型作为对照。将喂养 Rimonabant、孕烯醇酮构建占据 CB1R 大鼠及正常 SD 大鼠各 3 只放入专用的麻醉盒中, 异氟烷(体积分数 1.5%, 2~4 ml/min O_2)麻醉后, 根据大鼠体质量以 37 kBq/g 的活度(约 0.5 ml)经尾静脉注射 ^{18}F -JR-1001, 大鼠注射后室温正常活动 30 min。60 min 内解剖, 取其心、肝、脾、肺、肾、脑放在放射自显影专用的磷屏, 避光放置 30 min 后扫描。扫描结束后, γ 计数仪测量放射性浓度, 并对显像剂注入时间进行衰减校正。同时, 对脑区的摄取采取定量化检测。

6. MicroPET/CT 显像。取正常 SD 大鼠和喂养 Rimonabant 构建占据 CB1R 大鼠模型(阻断组)各 3 只, 异氟烷麻醉后按体质量经尾静脉注射生理盐水稀释的 37 kBq/g ^{18}F -JR-1001(0.5 ml)。实验大鼠注射后室

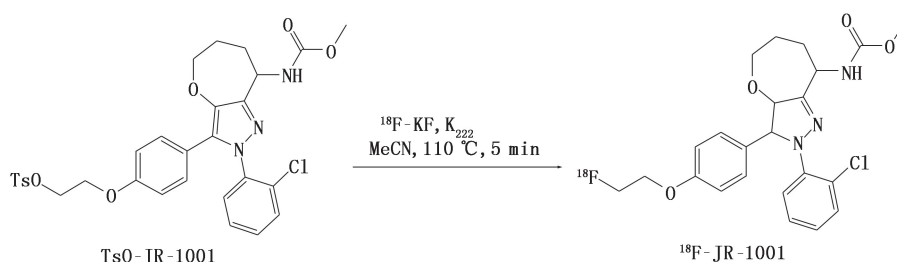


图1 ((2-(2-氯苯基)-3-(4-(2- ^{18}F -氟乙基)氧基)苯基)-5,6,7,8-四氢杂环庚慢并[3,2-c]吡啶-8-基)氨基)甲烷酸甲酯(^{18}F -JR-1001)的合成路线。TsO-JR-1001为4-甲基苯磺酸-2-((4-(2-(2-氯苯基)-8-((甲氧基羰基)氨基)-5,6,7,8-四氢杂环庚慢并[3,2-c]吡啶-3-基)苯基)氧基)乙基酯, K_{222} 为氨基聚醚, MeCN 为乙腈

温正常活动 20 min,在持续异氟烷(体积分数 1.5%,2~4 ml/min O₂) 麻醉下行 microPET 全身静态扫描 10 min。CT 衰变校正后使用 PMOD 重建图像,并利用软件进行全身关注区域分区,计算各个区域的摄取值,同时进行脑分区,计算正常 SD 大鼠和阻断组脑区(脑垂体、小脑-血液、中央沟-中脑导水管等)摄取值。

为验证这些脑区的 PET 显像剂摄取特异性靶向 CB1R,取 3 只 SD 大鼠分别经尾静脉按体质量注射 1 mg/kg 的抑制剂 Rimonabant 后 30 min 再注射¹⁸F-JR-1001,然后对正常 SD 大鼠及经 Rimonabant 预处理的 SD 大鼠各 3 只行 60 min 连续扫描。显像剂体积、剂量、麻醉方式、图像重建方法同前所述。

7.统计学处理。采用 GraphPad Prism 8.0 软件分析数据。符合正态分布的定量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示;细胞特异性摄取及放射自显影多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用最小显著差异 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义(双侧检验)。

结 果

1. ¹⁸F-JR-1001 的制备与质量控制。(1)产物的摩尔活度为(194.6±67.3) GBq/μmol,衰变校正后的放射化学产率为(32.5±9.2)%($n = 10$),产率较为稳定。化学纯大于 99%,总制备时间为 60 min。(2)注射液为无色澄清透明液体,pH 值 6.7,放化纯大于 99%,乙腈残留、乙醇残留、无菌和内毒素测试均合格。(3)同一性验证证明得到的产品为标记成功的¹⁸F-JR-1001。

2.体外细胞实验。60 min 时,4 组细胞的¹⁸F-JR-1001 摄取率差异有统计学意义($F = 190.30, P < 0.001$)。进一步两两比较,CHO 细胞[(3.91±0.33)%]、hCB2R-CHO 细胞[(3.18±0.06)%]、经过 Rimonabant 处理后的 hCB1R-CHO 细胞[(3.27±0.20)%]对¹⁸F-JR-1001 的摄取远低于 hCB1R-CHO 细胞[(6.58±0.10)%];*t* 值:13.39、53.51、26.29,均 $P < 0.001$],hCB1R-CHO 细胞经过 Rimonabant 处理后的摄取率直接降至与 hCB2R-CHO 细胞相近。竞争性结合实验结果示半抑制浓度为 0.975 nmol/L。

3.体外稳定性及脂水分分配系数。37℃放置 3 h 后,¹⁸F-JR-1001 在生理盐水中放化纯仍>98%,而在大鼠血液中,其放化纯也始终大于 92%,且没有明显的放射性副产物峰。¹⁸F-JR-1001 的脂水分分配系数 log *P* 为 3.40±0.11($n = 3$)。

4.放射自显影(图 2)。¹⁸F-JR-1001 除在肝中有较

高摄取外,在心、肾、脑、肺等组织均有一定摄取,与 CB1R 在 SD 大鼠的全身组织分布相一致^[14]。3 组大鼠脑摄取差异无统计学意义($F = 2.37, P = 0.124$),其中正常 SD 大鼠组摄取值为(75.34±10.51)×10⁴,喂养 Rimonabant、孕烯醇酮构建占据 CB1R 大鼠组摄取值分别为(49.43±8.84)×10⁴、(66.55±6.39)×10⁴($n = 3$),喂养 Rimonabant、孕烯醇酮构建占据 CB1R 大鼠的脑摄取值分别为正常 SD 大鼠的 65.6%、88.3%。

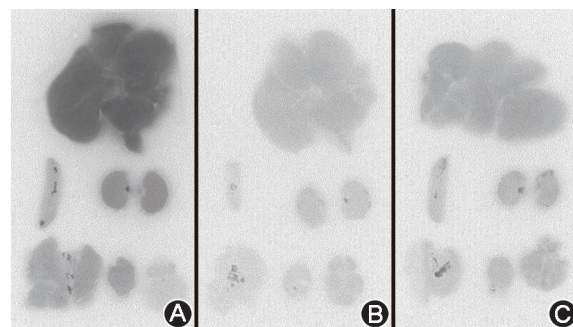


图 2 正常 SD 大鼠(A)及喂养 Rimonabant(B)、孕烯醇酮(C)构建占据大麻素 1 型受体(CB1R)大鼠注射((2-(2-氯苯基)-3-(4-((2-¹⁸F-氟乙基)氧基)苯基)-5,6,7,8-四氢氧杂环庚烷并[3,2-c]吡啶-8-基)氨基)甲烷甲酸甲酯(¹⁸F-JR-1001)后 30 min 的放射自显影图像。摆放顺序为上 1 肝、中 1 脾、中 2 肾、下 1 肺、下 2 心、下 3 脑(颜色越深,摄取越高),可见正常 SD 大鼠的颜色较其他 2 组更深

5. MicroPET/CT 显像。正常 SD 大鼠全身显像(图 3)结果示探针在小肠、膀胱有非常高的摄取,其中小肠的高摄取可能是因为¹⁸F-JR-1001 有较高的亲脂性;在肝、心、肾、脑等组织有一定摄取,这与 CB1R 在 SD 大鼠的表达分布相一致^[14];而在脾和骨则仅有少量摄取,与放射自显影数据相符。

正常 SD 大鼠¹⁸F-JR-1001 脑显像(图 4A)示,内侧前额叶皮质、纹状体、隔膜、海马后部、海马前背侧等对¹⁸F-JR-1001 的摄取最高(SUV>1.10),下丘脑、绣球、上丘等也有一定的摄取(SUV≈1),而中脑、腹侧被盖区、脑桥、脑垂体等摄取相对更低。其中正常 SD 大鼠的全脑摄取均值 1.056 1,阻断组全脑摄取均值为 0.470 6,阻断组(图 4B)摄取明显降低。

阻断组的整体 ROIs 的 SUV 低于正常 SD 大鼠 SUV,其中脑垂体、小脑-血液、中央沟-中脑导水管周围灰质下降较少,均在 46%以内;而在隔膜、纹状体和海马后部 SUV 下降更为明显,均超过 64%。以全脑为基准计算 SUV 比值(SUV ratio, SUVR),正常 SD 大鼠和阻断组的绣球、扣带回皮质和内侧前额叶皮质等的 SUVR 均比其他脑区 SUVR 高。

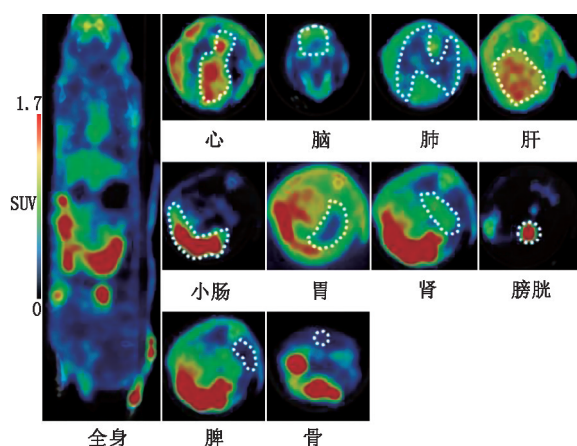


图3 正常SD大鼠注射((2-(2-氯苯基)-3-(4-((2- 18 F-氟乙基)氧基)苯基)-5,6,7,8-四氢氧杂环庚烷并[3,2-c]吡唑-8-基)氨基)甲酸甲酯(18 F-JR-1001)后20 min的microPET/CT显像图。可见脾脏、骨摄取非常低,而小肠、膀胱等有非常高的摄取

6. 血-脑屏障穿透能力验证。观察正常SD大鼠脑区域重建后的2个时间段的microPET/CT融合图像(图5A, 5B)发现, SUV处于0~1.7时, 0~20 min时间段内观察到部分显像剂聚集在脑区, 特别是在小脑部位; 20~60 min时间段内, 脑区显像剂摄取大幅提高, 同其他区域的对比也愈加明显。调整SUV范围到1~1.7(图5B), 清晰可见颅骨内的脑组织出现较高的显像剂摄取($SUV > 1$)。在整个时间段里, 几乎没有发现包括颅骨、颈椎骨等骨组织

存在明显的显像剂摄取。而Rimonabant预处理的SD大鼠, 全脑区的 18 F-JR-1001摄取大幅下降(图5C), 表明 18 F-JR-1001在脑区特异性地靶向CB1R。

讨论

以抑郁症相关的CB1R靶点作为研究方向, 本研究利用融合型自动合成仪制备了靶向CB1R的PET显像剂 18 F-JR-1001, 其在生理盐水和大鼠血液中没有观察到明显的放射性副产物峰, 这表明 18 F-JR-1001的体外稳定性佳, 在常规使用中不易出现放射性分解, 推断其在体内的稳定性较好。细胞实验显示 18 F-JR-1001在hCB1R-CHO细胞株中的摄取特异性靶向CB1R, 竞争性结合实验表明 18 F-JR-1001对CB1R的结合具有高亲和力和高选择性。

放射自显影结果发现, 18 F-JR-1001在生物体内CB1R富集的地方均有摄取, 表明在不同组织中均显示特异性的特征; 在脾则仅有少量摄取被观察到, 表明探针在体内具有较高的代谢稳定性, 放射性脱氟现象较少。对比2组抑制剂发现, 喂养Rimonabant、孕烯醇酮构建占据CB1R大鼠的脑摄取值分别为正常SD大鼠的65.6%、88.3%, Rimonabant抑制CB1R表达的效果较孕烯醇酮的抑制效果好, 且不会因为抑制剂的不同而产生摄取不均的结果, 排除了因选择不同的抑制剂而造成摄取区域不同影响。故microPET/CT显像仅分析喂养Rimonabant

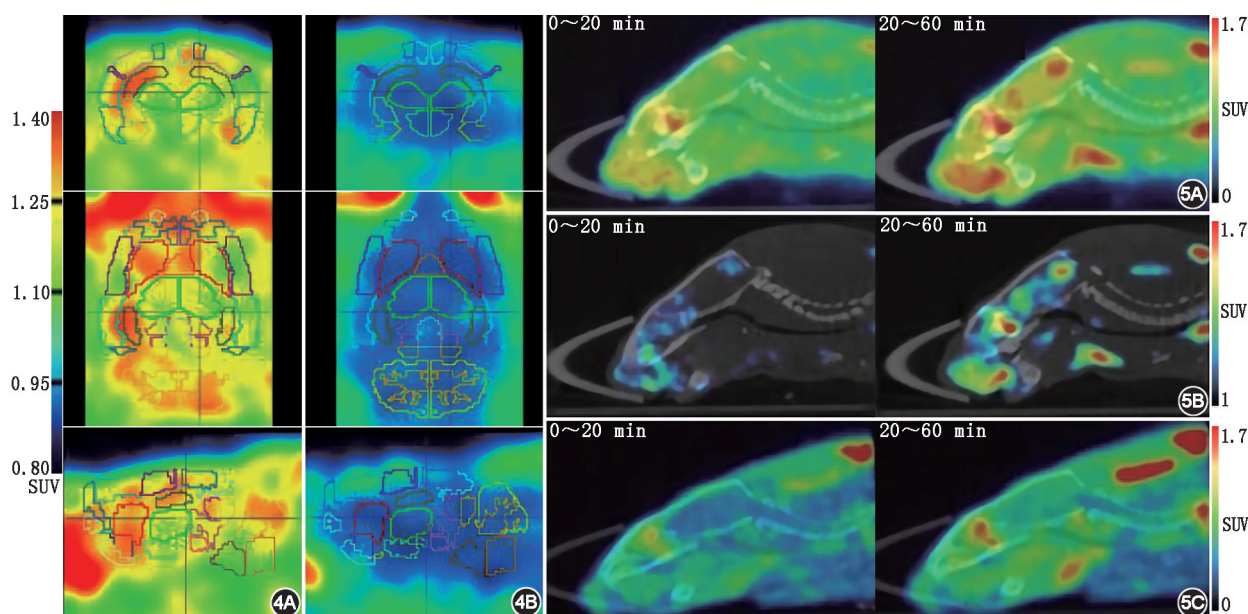


图4 正常SD大鼠(4A)、喂养Rimonabant构建占据大麻素1型受体(CB1R)大鼠模型(阻断组;4B)注射 18 F-JR-1001后20 min的microPET/CT脑显像图。可见阻断组摄取明显降低 图5 正常SD大鼠(5A, 5B)、Rimonabant预处理的SD大鼠(5C)注射 18 F-JR-1001后0~60 min的脑区microPET/CT融合图像。可见随着时间变化, 脑中的摄取越来越高; 而经Rimonabant预处理的SD大鼠摄取较正常大鼠明显降低

构建占据 CB1R 大鼠及正常 SD 大鼠, 结果示¹⁸F-JR-1001 在 SD 大鼠脑区的分布情况与 CB1R 在中枢神经系统表达情况高度一致^[5], 表明了¹⁸F-JR-1001 对 CB1R 的高度亲和力和选择性。内侧前额叶、背外侧前额叶等皮质 SUVR 较高或许是因为其是情感和认知的调控关键部位^[15], 其内含的丰富谷氨酸能神经元将介导参与到多样的神经环路的活动^[16]。

本研究还关注了¹⁸F-JR-1001 在 SD 大鼠脑区的摄取情况, 放射自显影及 microPET/CT 结果表明探针具有较好的血-脑屏障的穿透能力, 与实验得到的脂水分配系数数据一致。CB1R 减少时, 探针在脑区的摄取量减少, 和目前研究中发现抑郁症生物体内可能会出现 CB1R 减少的特征相符合^[5,10], 再次证明了¹⁸F-JR-1001 替代现有的 CB1R 靶向探针在临床应用中的潜力。同时, 血-脑屏障穿透能力的结果显示颅骨、颈椎骨等骨组织几乎没有显像剂摄取, 表明¹⁸F-JR-1001 具有较好的体内代谢稳定性, 没有出现或仅有少量的放射性脱氟现象。而探针¹⁸F-MK-9470、¹⁸F-FPATPP、¹⁸F-FMPEP-d₂ 的 PET 图像示骨摄取均较¹⁸F-JR-1001 高^[7-10], 表明¹⁸F-JR-1001 脱氟现象相较于现有的 3 种探针低, 安全性较高。

综上, 本研究制备了新型靶向 CB1R 的 PET 显像剂, 开展相应评价研究, 结果显示性能优于已知探针。考虑到实际合成以及生物实验处理方式的不同, 后续还需通过更大的生物样本量论证。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 毛迪龙: 研究实施、论文撰写、图像采集、统计学分析; 徐洋洋、魏毅: 研究实施、论文撰写; 陈俊威、何万里、金晨涛、马晓芬: 图像采集、统计学分析; 张宏、曹淑霞、陈巧珍、和庆钢: 研究指导、论文修改

参 考 文 献

- [1] Bo Y, Zhao X, Li L. Cardiotoxic effects of common and emerging drugs: role of cannabinoid receptors[J]. Clin Sci (Lond), 2024, 138(6): 413-434. DOI:10.1042/CS20231156.
- [2] Mori K, Togo A, Yamashita K, et al. Mitochondrial damage and ER stress in CB1 receptor antagonist-induced apoptosis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells[J]. Neuropharmacology, 2025, 273: 110440. DOI:10.1016/j.neuropharm.2025.110440.
- [3] Kouchaeknejad A, Van Der Walt G, De Donato MH, et al. Imaging and genetic tools for the investigation of the endocannabinoid system in the CNS[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(21): 15829. DOI:10.3390/ijms242115829.
- [4] 石亚军, 马磊, 李力, 等. 大麻素受体 1 与中枢神经系统疾病关系的研究进展[J]. 中华神经医学杂志, 2018, 17(2): 195-198. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2018.02.017.
- [5] Shi YJ, Ma L, Li L, et al. Recent advance in relationship between cannabinoid receptor 1 and central nervous system diseases[J]. Chin J Neuromed, 2018, 17(2): 195-198. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2018.02.017.
- [6] Rathod SS, Agrawal YO, Nakhate KT, et al. Neuroinflammation in the central nervous system: exploring the evolving influence of endocannabinoid system[J]. Biomedicine, 2023, 11(10): 2642. DOI:10.3390/biomedicine11102642.
- [7] Tao R, Li C, Jaffe AE, et al. Cannabinoid receptor CNR1 expression and DNA methylation in human prefrontal cortex, hippocampus and caudate in brain development and schizophrenia[J]. Transl Psychiatry, 2020, 10(1): 158. DOI:10.1038/s41398-020-0832-8.
- [8] Burns HD, Van Laere K, Sanabria-Bohórquez S, et al. [¹⁸F]MK-9470, a positron emission tomography (PET) tracer for *in vivo* human PET brain imaging of the cannabinoid-1 receptor[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(23): 9800-9805. DOI:10.1073/pnas.0703472104.
- [9] Shen CJ, Zheng D, Li KX, et al. Cannabinoid CB1 receptors in the amygdalar cholecystokinin glutamatergic afferents to nucleus accumbens modulate depressive-like behavior[J]. Nat Med, 2019, 25(2): 337-349. DOI:10.1038/s41591-018-0299-9.
- [10] Lahdenpohja S, Rajala NA, Helin JS, et al. Ruthenium-mediated ¹⁸F-fluorination and preclinical evaluation of a new CB1 receptor imaging agent [¹⁸F]FPATPP[J]. ACS Chem Neurosci, 2020, 11(13): 2009-2018. DOI:10.1021/acschemneuro.0c00313.
- [11] Jiang H, Guo Y, Muzik O. Automated radiosynthesis of [¹⁸F]FMPEP-d₂ for cannabinoid receptor PET imaging[J]. Am J Nucl Med Mol Imaging, 2023, 13(4): 171-178.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2025: 119, 151, 159, 191, 213. Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China Part IV[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2025: 119, 151, 159, 191, 213.
- [13] Kilbourn MR, Cole EL, Scott P. *In vitro* binding affinity vs. *in vivo* site occupancy: a PET study of four diastereomers of dihydrotetra-benzazine (DTBZ) in monkey brain[J]. Nucl Med Biol, 2021, 92: 38-42. DOI:10.1016/j.nucmedbio.2020.02.008.
- [14] Singh S, Sarroza D, English A, et al. Pharmacological characterization of the endocannabinoid sensor GRAB_{CB2.0}[J]. bioRxiv, 2023, in press. DOI:10.1101/2023.03.03.531053.
- [15] Alzu'bi A, Almahasneh F, Khasawneh R, et al. The synthetic cannabinoids menace: a review of health risks and toxicity[J]. Eur J Med Res, 2024, 29(1): 49. DOI:10.1186/s40001-023-01443-6.
- [16] Sung Y, Kaang BK. The three musketeers in the medial prefrontal cortex: subregion-specific structural and functional plasticity underlying fear memory stages[J]. Exp Neurobiol, 2022, 31(4): 221-231. DOI:10.5607/en22012.
- [17] Jobson DD, Hase Y, Clarkson AN, et al. The role of the medial prefrontal cortex in cognition, ageing and dementia[J]. Brain Commun, 2021, 3(3): fcab125. DOI:10.1093/braincomms/fcab125.

(收稿日期: 2024-09-05)