

<https://doi.org/10.22643/JRMP.2016.2.2.69>

A pyrazolopyrimidine-based radioligand for imaging of the translocator protein

Young-Do Kwon, and Hee-Kwon Kim*

Department of Nuclear Medicine, Molecular Imaging & Therapeutic Medicine Research Center, Cyclotron Research Center, Biomedical Research Institute, Chonbuk National University Medical School and Hospital, Jeonju, Jeonbuk 561-712, Republic of Korea

ABSTRACT

Since the translocator protein (TSPO) is involved in neurodegeneration diseases, many scientists' interest has been focused on the development of a ligand targeting TSPO. A novel compound based on pyrazolo[1,5 -a]pyrimidine structure, DPA-714, has been studied and considered as a TSPO ligand with high affinity. In this highlight review, several researches for the novel radioligand for the translocator protein are illustrated.

J Radiopharm Mol Probes 2(2):69-72, 2016

Key Word: DPA-714, Translocator protein, Positron emission tomography (PET), Pyrazolo[1,5 -a]pyrimidine, PET radiotracer

뇌 세포들 중 큰 비중을 차지 하고 있는 소교세포는 활성 산소와 같은 뇌에 좋지 않은 영향을 주는 독성 물질에 대한 면역 반응을 주로 담당하고 있다. 만약 중추신경계에서 독성 물질로 인한 자극이 나타나면, 소교세포는 아메바 모양의 형태로 변하면서 활성화 된다(1).

미토콘드리아에서 발견할 수 있는 18 kDa 전이체 단백질(translocator protein, TSPO)의 주 역할은 콜레스테롤을 미토콘드리아 내부로 수송하는 것이다. 수송된 콜레스테롤이 사이토크롬 P450sc에 의해 프레그네놀론으로 전환되어 스테로이드 합성이 진행된다(2). 그 밖에도 전이체 단백질은 세포자멸사, 이온수송, 면역제어 등 다양한 기능을 가지고 있다(3).

전이체 단백질은 활성화된 소교세포에서 과발현되며 소교세포의 활성화는 신경변성 질환의 발생과 관련이 있다고 알려져 있다. 또한 활성화 되지 않은 소교세포에서는 전이체 단백질이 아주 적은 정도로 발현된다. 이러한 차이를 통해 전이체

단백질은 치매, 파킨슨 병과 같은 신경변성 질환을 진단하는 표적물질로 주목 받고 있다(4). 이와 함께 방사성의약품을 사용하는 양전자방출단층촬영술 등의 개발 및 발전을 통해 전이체 단백질의 영상화가 가능해졌다.

전이체 단백질 영상용 리간드로써 ^{11}C -PK11195가 개발된 이후, 이에 대한 많은 연구가 진행되었으며 전이체 단백질에 대해 높은 결합 친화성을 가지고 있는 것으로 보고되었다(5). 하지만 ^{11}C -PK11195의 낮은 신호 대 잡음비 및 뇌 섭취는 ^{18}F -AB5186, ^{18}F -GE-180, ^{11}C -DPA-713, ^{18}F -DPA-714와 같은 새로운 리간드들의 개발을 이끌었다(5-9).

본 하이라이트 리뷰논문에서는 전이체 단백질 리간드인 ^{18}F -DPA-714에 대해서 소개하고자 한다. 2001년 pyrazolo[1,5-a]pyrimidin 구조를 기반으로 한 다양한 유도체들의 전이체 단백질로의 결합 친화성에 대한 연구가 발표된 이후, 2005년 Kassiou 그룹은 그 중 하나의 유도체에 ^{11}C 를 표지하여 ^{11}C -DPA-713를 합성하였으며 이에 대한 개코

December 4, 2016 / Revised: December 12, 2016 / Accepted: December 15, 2016

Corresponding Author : Hee-Kwon Kim, Department of Nuclear Medicine, Chonbuk National University Medical School and Hospital, Jeonju, Jeonbuk 561-712, Republic of Korea. Tel: +82 63 250 2768, Fax: +82 63 255 1172, E-Mail address: hkim717@jbnu.ac.kr

Copyright©2016 The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

원숭이의 *in vivo* 연구를 통해 ^{11}C -DPA-713이 선택적으로 전이체 단백질에 타케팅하는 것을 밝혀냈다(8, 10). 그 후, 2008년 Kassiou 그룹은 ^{18}F 를 포함한 DPA-713의 유도체인 ^{18}F -DPA-714를 Scheme 1과 Scheme 2의 방법을 통하여 개발하였다(9, 11).

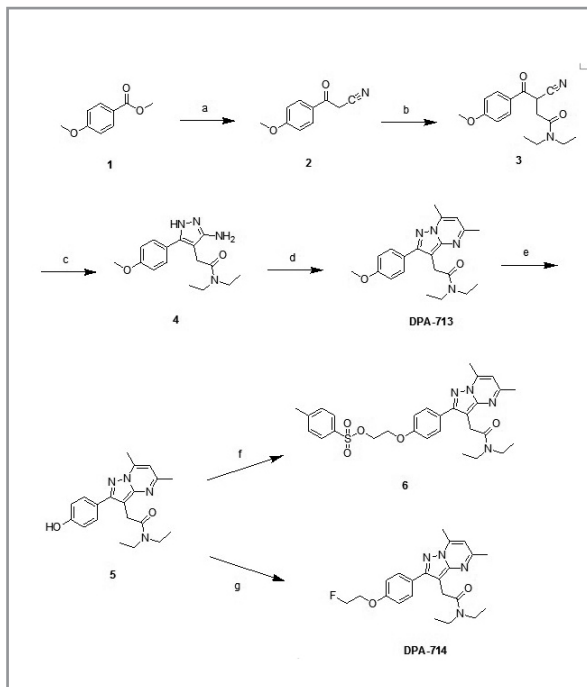
Kassiou 그룹은 개발된 ^{18}F -DPA-714의 전이체 단백질 용 리간드로서의 가능성을 확인하기 위해 다양한 실험을 진행하였다. 일단, 친지방성 지표인 노말 옥탄올과 물 사이의 분배계수 (Log P)가 1.66으로 뇌 영상용 리간드로서 적합한 값을 보였다. ^3H -PK11195를 방사성기준 리간드로 사용하여 *in vitro* 결합 친화성을 측정한 결과 DPA-713 (4.7 nM)이 DPA-714 (7.0 nM)보다 좋은 결과를 보였다. 두 리간드 모두 PK11195 (9.3 nM)보다 향상된 값을 나타냈다. 그리고 위의 리간드들에 대한 C6 신경교종세포 이식 쥐에서의 프레그네 놀론 축적 정도를 확인하였다. DPA-714가 PK11195보다 높은 값을 나타낸 반면, DPA-713은 큰 변화가 나타나지 않았

다. 앞선 두 결과를 통해 Kassiou 그룹은 DPA-714가 전이체 단백질에 대해 더욱 적합한 리간드임을 확인하였다. 또한, 뇌에 퀴놀린 산을 이용하여 병변을 유발한 쥐의 생체 내 분포 실험을 통해 ^{18}F -DPA-714가 전이체 단백질에 선택적으로 결합하는 것을 확인하였다. 이와 더불어 개코원숭이를 이용한 *in vivo* 영상 실험도 진행되었다. ^{18}F -DPA-714만 주입하여 얻은 영상을 PK11195를 ^{18}F -DPA-714 주입 5분 전에 주입하여 얻은 영상과 비교하였다. ^{18}F -DPA-714만 주입한 결과와 달리 PK11195를 미리 주입한 경우에는 뇌 내에서 영상을 확인할 수 없었다. 뇌 내에서 병변이 유발된 쥐에서의 실험과 같이 개코원숭이를 이용한 실험에서도 ^{18}F -DPA-714가 전이체 단백질에 선택적으로 작용한다는 것이 확인되었다(9, 11).

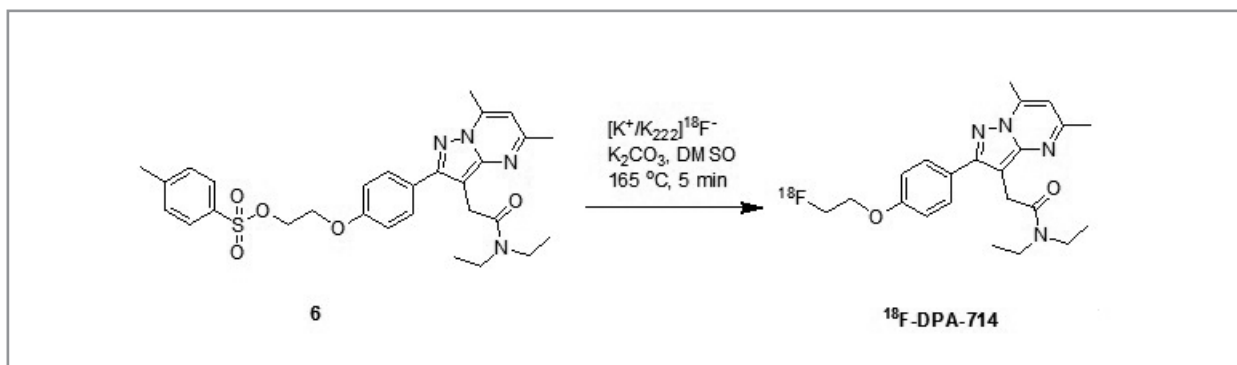
2010년 Manning 그룹은 DPA-714의 효율적인 합성을 위해서 마이크로파를 이용한 새로운 합성방법을 고안하였다. 합성의 각 단계들을 기존의 방법과 마이크로파를 이용한 합성방법을 비교한 결과 일부 단계에서 합성 수율이 향상되었다(12). 또한, 2012년 Kassiou 그룹에서 실리카겔 컬럼크래마토그래피라는 기존의 방법이 아닌 재결정 방법을 사용하여 DPA-714를 합성하였다. 새로운 분리방법의 적용을 통하여 물질 1에서 물질 5까지의 합성을 기존의 방법들보다 향상된 값인 40%의 수율로 진행하였다. 또한, 수 그램 단위의 반응이 어렵지 않고 순수하게 분리되는 것을 확인하였다(13).

2012년 Arlicot 등은 Kassiou 그룹과 함께 ^{18}F -DPA-714를 이용하여 건강한 사람에서의 양전자방출단층촬영을 실시 및 분석하였다. 생체 내 분포와 쥐의 분포 값으로부터 ^{18}F -DPA-714의 유효선량은 17.2 microSv/MBq로 계산되었다. ^{18}F -DPA-714를 사람에게 주사하고 20분 후에도 80%의 리간드가 변형되지 않은 안정성, 생체 내 분포 상태 및 적절한 유효선량을 바탕으로 ^{18}F -DPA-714가 임상시험에 적합한 특성을 가진 것으로 확인되었다(14).

DPA-714는 2008년에 개발된 이후 *in vitro*, *in vivo* 실험을 통해 전이체 단백질용 리간드에서 기준 물질로 여겨지는 PK11195보다 더욱 적합한 리간드로 확인되었다. 또한, Kassiou 그룹에서 진행한 ^{18}F -DPA-714의 생물학적 평가 외에도 다양한 연구 그룹에서 쥐, 비인간 영장류 및 사람에서 임상시험이 진행되어 그 결과가 발표되었다(15-20). 이러한



Scheme 1. Synthesis of DPA-714 and the radiolabelling precursor for ^{18}F -DPA-714. (a) Sodium methoxide, acetonitrile, 100°C; (b) N,N-Diethylchloroacetamide, sodium iodide, sodium hydroxide in 80% ethanol, reflux; (c) Hydrazine hydrate, acetic acid, ethanol, reflux; (d) 2,4-Pentadione, ethanol, reflux; (e) Boron tribromide solution 1.0 M in tetrahydrofuran, dichloromethane, -60°C; (f) 1. Sodium hydride, tetrahydrofuran, 5°C; 2. 1,2-di(tosyloxy)ethane, dichloromethane, reflux; (g) 1. Sodium hydride, tetrahydrofuran, 5°C; 2. 1-fluoro-2-tosyloxyethane, dichloromethane, 60°C

Scheme 2. Radiosynthesis of ^{18}F -DPA-714.

결과들을 종합해 보았을 때, 전이체 단백질과의 높은 결합 친화성과 뇌 영상용 리간드에 적합한 성질을 바탕으로 DPA-714을 통해 신경변성 질환을 성공적으로 진단할 수 있을 것이다.

References

1. Trapani A, Palazzo C, de Candia M, Lasorsa FM, Trapani G. Targeting of the Translocator Protein 18 kDa (TSPO): A Valuable Approach for Nuclear and Optical Imaging of Activated Microglia. *Bioconj Chem* 2013;24:1415-1428.
2. Scarf AM, Kassiou M. The Translocator Protein. *J Nucl Med* 2011;52:677-680.
3. Papadopoulos V, Baraldi M, Guilarte TR, Knudsen TB, Lacapere J-J., Lindemann P, Norenberg MD, Nutt D, Weizman A, Zhang M-R, Gavish M. Translocator protein (18 kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends Pharmacol Sci* 2006;27:402-409.
4. Scarf AM, Ittner LM, Kassiou M. The Translocator Protein (18 kDa): Central Nervous System Disease and Drug Design. *J Med Chem* 2009;52:581-592.
5. Chauveau F, Boutin H, Van Camp N, Dollé F, Tavitian B. Nuclear imaging of neuroinflammation: a comprehensive review of [^{11}C]PK11195 challengers. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008;35:2304-2319.
6. Blair A, Zmuda F, Malviya G, Tavares AAS, Tamagnan GD, Chalmers AJ, Dewar D, Pimlott SL, Sutherland A. A novel ^{18}F -labelled high affinity agent for PET imaging of the translocator protein. *Chem Sci* 2015;6:4772-4777.
7. Wadsworth H, Jones PA, Chau W-F, Durrant C, Fouladi N, Passmore J, O'Shea D, Wynn D, Morisson-Iveson V, Ewan A, Thaning M, Mantzilas D, Gausemel I, Khan I, Black A, Avory M, Trigg W. [^{18}F]GE-180: A novel fluorine-18 labelled PET tracer for imaging Translocator protein 18 kDa (TSPO). *Bioorg Med Chem Lett* 2012;22:1308-1313.
8. James ML, Fulton RR, Henderson DJ, Eberl S, Meikle SR, Thomson S, Allan RD, Dolle F, Fulham MJ, Kassiou M. Synthesis and in vivo evaluation of a novel peripheral benzodiazepine receptor PET radioligand. *Bioorg Med Chem* 2005;13:6188-6194.
9. James ML, Fulton RR, Vercoullie J, Henderson DJ, Garreau L, Chalon S, Dolle F, Selleri S, Guilloteau D, Kassiou M. DPA-714, a New Translocator Protein-Specific Ligand: Synthesis, Radiofluorination, and Pharmacologic Characterization. *J Nucl Med* 2008;49:814-822.
10. Selleri S, Bruni F, Costagli C, Costanzo A, Guerrini G, Ciciani G, Costa B, Martini C. 2-Arylpiazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl Acetamides. New Potent and Selective Peripheral Benzodiazepine Receptor Ligands. *Bioorg Med Chem* 2001;9:2661-2671.
11. Damont A, Hinnen F, Kuhnast B, Schollhorn-Peyronneau M-A, James M, Luus C, Tavitian B, Kassiou M, Dolle F. Radiosynthesis of [^{18}F]DPA-714, a selective radioligand for imaging the translocator protein (18kDa) with PET. *J Label Compd Radiopharm* 2008;51:286-292.
12. Tang D, Buck JR, Hight MR, Manning HC. Microwave-assisted organic synthesis of a high-affinity pyrazolo-pyrimidinyl TSPO ligand. *Tetrahedron Lett* 2010;51: 4595-4598.
13. Banister SD, Wilkinson SM, Hanani R, Reynolds AJ, Hibbs DE, Kassiou M. A practical, multigram synthesis of the 2-(2-(4-alkoxyphenyl)-5,7-dimethylpyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)acetamide (DPA) class of high affinity translocator protein (TSPO) ligands. *Tetrahedron Lett* 2012;53:3780-3783.
14. Arlicot N, Vercoullie J, Ribeiro M-J, Tauber C, Venel

- Y, Baulieu J-L, Maia S, Corcia P, Stabin MG, Reynolds A, Kassiou M, Guilloteau D. Initial evaluation in healthy humans of [¹⁸F]DPA-714, a potential PET biomarker for neuroinflammation. *Nucl Med Biol* 2012;39:570-578.
15. Doorduyn J, Klein HC, Dierckx RA, James M, Kassiou M, de Vries EFJ. [¹¹C]-DPA-713 and [¹⁸F]-DPA-714 as New PET Tracers for TSPO: A Comparison with [¹¹C]-(R)-PK11195 in a Rat Model of Herpes Encephalitis. *Mol Imaging Biol* 2009;11:386-398.
 16. Martin A, Boisgard R, Theze B, Camp NV, Kuhnast B, Damont A, Kassiou M, Dollé F, Tavitian B. Evaluation of the PBR/TSPO radioligand [¹⁸F]DPA-714 in a rat model of focal cerebral Ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2010;30:230-241.
 17. Vicidomini C, Panico M, Greco A, Gargiulo S, Coda ARD, Zannetti A, Gramanzini M, Roviello GN, Quarantelli M, Alfano B, Tavitian B, Dollé F, Salvatore M, Brunetti A, Pappatà S. In vivo imaging and characterization of [¹⁸F]DPA-714, a potential new TSPO ligand, in mouse brain and peripheral tissues using small-animal PET. *Nucl Med Biol* 2015;42:309-316.
 18. Lavisse S, Inoue K, Jan C, Peyronneau MA, Petit F, Goutal S, Dauguet J, Guillemier M, Dollé F, Rbah-Vidal L, Camp NV, Aron-Badin R, Remy P, Hantraye P. [¹⁸F]DPA-714 PET imaging of translocator protein TSPO (18 kDa) in the normal and excitotoxically-lesioned nonhuman primate brain. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2015;42:478-494.
 19. Peyronneau M-A, Saba W, Goutal S, Damont A, Dollé F, Kassiou M, Bottlaender M, Valette H. Metabolism and Quantification of [¹⁸F]DPA-714, a New TSPO Positron Emission Tomography Radioligand. *Drug Metab Dispos* 2013;41:122-131.
 20. Hamelin L, Lagarde J, Dorothee G, Leroy C, Labit M, Comley RA, de Souza LC, Corne H, Dauphinot L, Bertoux M, Dubois B, Gervais P, Colliot O, Potier MC, Bottlaender M, Sarazin M, the Clinical IMABio3 team. Early and protective microglial activation in Alzheimer's disease: a prospective study using ¹⁸F-DPA-714 PET imaging. *Brain* 2016;139:1252-1264.