

文章编号: 0253-9950(2001)01-0018-05

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 的制备, 生物分布 及与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 的对比

张俊波, 王学斌

(北京师范大学 化学系, 北京 100875)

摘要: 以 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 为还原剂, 丁二酰二酰肼 (SDH) 为 N^{3-} 离子提供体, 在室温下制备 $[\text{N}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}]_{\text{int}}^{2+}$ 中间体, 然后与二水 N-环己基-二硫代氨基甲酸钠 (CHDTC) 发生配位体交换反应得到放化纯大于 90% 的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 配合物。小鼠体内的生物分布实验表明, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 有较高的脑摄取和较好的脑滞留。注射后 5, 30, 60 min 时, 脑摄取量 (%/g) 分别为 2.91, 5.88, 5.91, R (脑/血) 比值分别为 0.14, 1.46, 2.10。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 在心肌中也有较高的摄取, 但 R (心/肝) 比值低。采用甲脒亚磺酸 (FSA) 作还原剂对配位体 CHDTC 进行 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 直接标记, 其在小鼠体内的生物分布结果表明, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 主要蓄积在肝脏, 脑、心肌摄取很少。这表明放射性药物分子中引入 $[\text{N}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}]^{2+}$ 核会引起生物分布性质的明显改变。

关键词: $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$; 放射性药物; 心脑血管摄取; 生物分布

中图分类号: O614.712 **文献标识码:** A

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 直接标记的锝配合物在核医学领域中已得到了广泛的应用^[1,2]。但是, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 直接标记的锝配合物在生理条件下其稳定性受诸多因素的影响, 如配位体的性质, 还原剂和 pH 等。为获得稳定的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 配合物需要选择各种标记条件^[3]。 N^{3-} 可以作为末端原子或桥原子与金属离子结合形成稳定的化学键, 从而使高价金属离子趋于稳定。锝氮三重键由一个 σ 键和 2 个分别由 N 原子的 p_x 和 p_y 轨道与 Tc 原子的 d_{xz} 和 d_{yz} 轨道重叠所形成的 π 键组成, 从而使 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ 核类配合物具有较高的化学稳定性。其中, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}(\text{NOEt})_2$ 以其优良的亲心肌性质^[3,4]和再分布特性^[5]引起了人们的极大兴趣。在制备 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}(\text{NOEt})_2$ 的基础上^[6,7], 本文又研究 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 的制备及其生物分布。为了对比 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 的异同, 检验配合物分子中 $[\text{N}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}]^{2+}$ 中心核的引入对其生物分布的影响, 采用甲脒亚磺酸 (FSA) 作还原剂对配位体 CHDTC 进行直接标记, 并进行 2 种配合物的脂溶性和在小鼠体内生物分布的比较。

收稿日期: 2000-06-20; 修订日期: 2000-08-31

作者简介: 张俊波 (1971—), 男, 贵州贵阳人, 助研, 放射化学专业

1 实验部分

1.1 试剂

$^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4^-$ 淋洗液由中国原子能科学研究院生产的 $^{99}\text{Mo-}^{99}\text{Tc}^m$ 发生器获得; $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 分析纯, 北京化工厂; 1,2-丙二胺四乙酸 (PDTA), 丁二酰二酰肼 (SDH), 甲脒亚磺酸 (FSA), 均为分析纯, 美国 Aldrich 公司产品; 聚酰胺薄膜和新华 1 号层析滤纸均为浙江黄岩四青生化材料厂生产; 其余试剂均为分析纯。

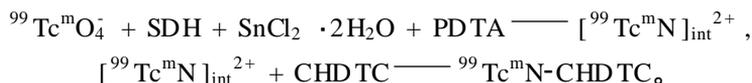
1.2 仪器

FH408 自动定标器, FT-603 阱型 闪烁探头, FJ-391 型同位素活度计, 均为北京核仪器厂产品; EB-280M-22 型电子动物天平, 日本岛津公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 配位体 CHDTC 的合成 配位体 CHDTC ( $\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 按文献 [3] 方法合成, 产品为白色晶体, 产率为 51.5%。红外谱分析结果为 (cm^{-1}): 3 350 ($-\text{OH}$), 3 200 ($-\text{NH}$), 2 940 ($-\text{CH}_2$), 1 480 ($\text{C}-\text{N}$), 980 ($\text{C}=\text{S}$)。二水·N-环己基-二硫代氨基甲酸钠的元素分析实测值(计算值)为 ($w/\%$): C, 36.04 (36.05); H, 6.74 (6.87); N, 5.93 (6.01)。

1.3.2 $^{99}\text{Tc}^m\text{-N-CHDTC}$ 的制备与层析鉴定 $^{99}\text{Tc}^m\text{-N-CHDTC}$ 的合成路线如下:



(1) $[^{99}\text{Tc}^m\text{N}]_{\text{int}}^{2+}$ 中间体制备: 按文献 [7] 的方法进行。将含有 5 mg SDH 和 5 mg PDTA 的 1.0 mL 水溶液、0.1 mL $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的 HCl 溶液 (0.2 mol/L HCl 中 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的质量浓度为 0.5 g/L) 依次加入到一青霉素小瓶中, 调节溶液的 pH 约 7.5, 然后加入 1 mL $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4^-$ 淋洗液, 室温下反应 15 min。

(2) $^{99}\text{Tc}^m\text{-N-CHDTC}$ 的制备: 将 1 mL (5 g/L) 的 CHDTC 的水溶液加入到上述中间体溶液中, 室温下反应 10 min。用聚酰胺薄膜作支持体, 用生理盐水作展开剂时, $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4^-$, $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, $[^{99}\text{Tc}^m\text{N}]_{\text{int}}^{2+}$, $^{99}\text{Tc}^m\text{-N-CHDTC}$ 的 R_f 值分别为 0.1, 0.1, 0.7~1.0, 0.1。而用体积比为 9:1 的二氯甲烷-甲醇混合液作展开剂时, $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4^-$, $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, $[^{99}\text{Tc}^m\text{N}]_{\text{int}}^{2+}$, $^{99}\text{Tc}^m\text{-N-CHDTC}$ 的 R_f 值分别为 0.1, 0.1, 0.1, 0.9~1.0。由上述层析体系鉴定测得标记物的放化纯大于 90%。

1.3.3 $^{99}\text{Tc}^m\text{-CHDTC}$ 制备与层析鉴定 $^{99}\text{Tc}^m\text{-CHDTC}$ 的合成路线为:



按文献 [8] 的方法制备 $^{99}\text{Tc}^m\text{-CHDTC}$ 。将 1.0 mL pH = 9 的碳酸盐缓冲液、0.6 mL CHDTC (15 g/L) 的水溶液、0.5 mL FSA (10 g/L) 的水溶液依次加入到一青霉素小瓶中, 然后加入 1 mL $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4^-$ 淋洗液, 室温下反应 15 min。用新华 1 号层析滤纸作支持体, 以二氯甲烷-甲醇混合液 (体积比为 9:1) 为展开剂时, $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4^-$, $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, $^{99}\text{Tc}^m\text{-CHDTC}$ 的 R_f 值分别为 0.1, 0.1, 0.8~1.0。由此层析体系鉴定测得标记物的放化纯大于 90%。

1.3.4 $^{99}\text{Tc}^m\text{-N-CHDTC}$ 和 $^{99}\text{Tc}^m\text{-CHDTC}$ 的脂水分配比的比较 取两支 10 mL 的离心试管, 每支离心试管中分别加入 2.0 mL 正辛醇和 2.0 mL 磷酸盐缓冲液 (0.025 mol/L, pH = 7.4), 然后各加入 0.1 mL 的 $^{99}\text{Tc}^m\text{-N-CHDTC}$ 和 $^{99}\text{Tc}^m\text{-CHDTC}$ 的标记液 (约 1.85 MBq)。充分振荡

后离心分层,各取有机相和水相 0.4 mL,用阱型 闪烁探头测量放射性计数,然后由有机相与水相的计数之比得分分配比 D 。通常用 $\lg D$ 值表示配合物脂溶性的大小。

1.3.5 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 在小鼠体内的生物分布实验 分别取 0.05 mL $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 标记液(约 7.4×10^5 Bq),通过尾静脉注射到体重约 20 g 的雌性昆明小白鼠体内。在注射后 5,30,60 min 断头处死小白鼠,取出心、脑、肝、肺、肾、血液等脏器。称重后,测量各脏器的放射性计数,换算成每克组织中计数占总注射量的百分比 ID (%/g)。每个时相的小白鼠数为 3 只。

2 结果和讨论

2.1 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 的制备

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 的制备必须先要制备 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}]_{\text{int}}^{2+}$ 中间体。在制备 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}]_{\text{int}}^{2+}$ 中间体时,曾使用三苯基膦(PPh_3)、三(间-磺基苯基)膦(TPPS)和 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 三种试剂作还原剂,但考虑到临床应用需要,以使用 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 作还原剂最为适宜。在 N^{3-} 离子的供给体中,曾使用了二硫代胍甲酸甲酯($\text{H}_2\text{NNHC}(=\text{S})\text{SCH}_3$)、N-甲基二硫代胍甲酸甲酯($\text{H}_2\text{NN}(\text{CH}_3)\text{C}(=\text{S})\text{SCH}_3$)和丁二酰二酰胍(简称 SDH, $\text{H}_2\text{NNHCOCH}_2\text{CH}_2\text{CONHNH}_2$)。但前 2 种试剂在水中的溶解度很差,需要沸水浴加热才能提供 N^{3-} 离子,而 SDH 在水中的溶解度稍好,在室温下能有效地提供 N^{3-} 离子,使操作方便,有利于临床推广。在制备 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 的过程中,加入 1,2-丙二胺四乙酸(PDPA)的目的是防止 Sn^{2+} 与配位体 CHDTC 生成沉淀 $\text{Sn}(\text{CHDTC})_2$,也可防止 Sn^{2+} 水解。而 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 的制备采用甲脒亚磺酸(FSA)作还原剂对配位体 CHDTC 进行 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 直接标记,方法简便、快速,不需要配位体交换等步骤。制备 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 时,溶液 pH 值应调至 7~8。如在 pH = 4 时,加入 CHDTC 则产生沉淀。这是由于配位体 CHDTC 是一弱碱,在酸性条件下不稳定所致。制备 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 时,溶液的 pH 值为碱性时放化纯大于 90%,在中性或酸性条件下放化纯度均低于 90%。

2.2 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 的脂水分分配比的比较

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 的 $\lg D$ 值为 1.50, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 的 $\lg D$ 值为 1.59,两者的脂溶性相差不大。说明脂溶性大小可能不是影响两者在小鼠体内生物分布显著差异的主要因素。

2.3 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 在小鼠中的生物分布

实验结果列入表 1。从表 1 可以看出, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 有较高的脑摄取和较长时间的脑滞留。值得注意的是,在 60 min 时脑摄取值(5.91 %/g)明显高于 5 min 时脑摄取值(2.91 %/g), R (脑/血)比值为 2.10,有望发展成为一类新型脑灌注显像剂。而 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 的脑摄取值和 R (脑/血)比值都很低。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 的心肌初始摄取率也较高,5 min 时心肌摄取达到 23.74 %/g,但 R (心/肝)比值较低,故不适宜作为心肌灌注显像剂。肝摄取值一直保持在很高的水平,这说明 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 主要经过肝胆系统代谢。与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 相比, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 的心肌摄取值很低,肝脏的摄取值较高,这说明 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 也是主要经过肝胆系统来代谢。从 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 的生物分布结果来看,配合物分子中, $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}]^{2+}$ 核的引入使其生物分布发生了很大的变化,这也为人们发展新型放射性药物提供了一条新的思路和途径。

表 1 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 在小鼠体内的生物分布
Table 1 Biodistribution of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ and $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ in mice %/g

| 脏器 (organs) | $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ | | | $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ | | |
|----------------|---|-------------|-------------|--|-------------|-------------|
| | 5 min | 30 min | 60 min | 5 min | 30 min | 60 min |
| 心(heart) | 23.74 ±1.81 | 18.72 ±0.80 | 12.51 ±0.19 | 5.32 ±0.79 | 5.14 ±0.51 | 4.19 ±0.58 |
| 肝(liver) | 63.17 ±2.17 | 55.60 ±5.08 | 45.39 ±1.03 | 41.50 ±3.83 | 39.72 ±2.48 | 23.63 ±2.84 |
| 肺(lung) | 23.94 ±2.14 | 12.33 ±2.39 | 11.09 ±1.03 | 15.96 ±2.56 | 11.03 ±1.03 | 7.87 ±2.37 |
| 肾(kidney) | 22.79 ±1.40 | 20.93 ±0.10 | 15.09 ±0.05 | 4.88 ±0.48 | 8.63 ±1.23 | 7.91 ±0.69 |
| 脑(brain) | 2.91 ±0.14 | 5.88 ±0.27 | 5.91 ±0.02 | 0.71 ±0.07 | 0.58 ±0.07 | 0.38 ±0.05 |
| 血(blood) | 7.15 ±0.20 | 4.04 ±0.14 | 2.82 ±0.12 | 18.34 ±0.58 | 8.38 ±0.95 | 5.08 ±0.43 |

注(note) : $n = 3$

3 结 论

(1) 采用 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 为还原剂, 丁二酰二酰肼(SDH) 为 N^{3-} 离子提供体, 在室温下制备 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}]_{\text{int}}^{2+}$ 中间体, 然后与配位体二水-N-环己基-二硫代氨基甲酸钠(CHDTC) 发生配位体交换反应可得到放化纯大于 90% 的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 配合物。小鼠体内生物分布实验表明, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ 有较高的脑摄取和较好的脑滞留。

(2) 同时采用甲脒亚磺酸(FSA) 作还原剂对配位体 CHDTC 进行了 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 直接标记, 小鼠生物分布结果表明, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ 主要在肝内浓集, 脑、心肌摄取很少。充分表明了放射性药物分子中引入 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}]^{2+}$ 核会引起生物分布性质的明显改变, 为今后放射性药物的设计提供了又一新的途径。

致谢: 本工作得到了程禾老师的协助, 特此致谢!

参考文献:

- [1] NOWOTNIK D P, CANNING L R, CUMMING S A, et al. Development of A ^{99}Tc -labelled Radiopharmaceutical for Cerebral Blood Flow Imaging[J]. Nucl Med Commun, 1985, 6:499.
- [2] VALLABHAJOSULA S, ZIMMERMAN R E, PICARD M, et al. Technetium-99m ECD: A New Brain Imaging Agent: In Vivo Kinetics and Biodistribution Studies in Normal Human Subjects[J]. J Nucl Med, 1989, 30:599.
- [3] PASQUALINI R, DUATTI A, BELLANDE E, et al. Bis(dithiocarbamate) Nitrido Technetium-99m Radiopharmaceuticals: A Class of Neutral Myocardial Imaging Agents[J]. J Nucl Med, 1994, 35:334.
- [4] PASQUALINI R, DUATTI A. Synthesis and Characterization of New Neutral Myocardial Imaging Agent $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{noet})_2]$ (noet = N-ethyl-N-ethoxydithiocarbamate) [J]. J Chem Soc Chem Commun, 1992, 18:1354.
- [5] FAGRET D, MARIE P Y, BRUNOTTE F, et al. Myocardial Perfusion Imaging With Technetium-99m NOET: Comparison With Thallium-201 and Coronary Angiography[J]. J Nucl Med, 1995, 36:936.
- [6] 张俊波, 王学斌, 张现忠. 一种新型中性心肌灌注显像剂 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}(\text{NOET})_2]$ 的研究——配体 NOET 的合成与标记[J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 1996, 32:529.
- [7] 张俊波, 王学斌. 一种改进的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}(\text{NOET})_2$ 的标记方法及其生物分布[J]. 核技术, 1999, 22:268.
- [8] BALLINGER J R, GERSON B, GULENCHYN K Y. Technetium-99m Dithiocarbamates as Potential Brain Agents: Evaluation of Aliphatic and Amine-containing Analogues[J]. Nucl Med Biol, 1989, 16:721.

PREPARATION AND BIODISTRIBUTION OF $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ AND COMPARISON WITH $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$

ZHANG J ur-bo , WANG X ue-bin

(Department of Chemistry , Beijing Normal University , Beijing 100875 , China)

Abstract : $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ (CHDTC :N-cyclohexyl dithiocarbamate dihydrate) is prepared through a two-step ligand-exchange reaction by using $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ as reduction agent and SDH (succinic dihydrazide) as a donor of nitride nitrogen atom (N^{3-}) at room temperature. The radiochemical purity (RCP) of the product is over 90 % by TLC. The biodistribution results in mice indicate that $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ has good brain uptake and retention , suggesting that it will be a new potential brain perfusion imaging agent. $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$ also exhibits high myocardial uptake , but the R (heart/ liver) is low thereby restricting the use of the complex as a good myocardial perfusion imaging agent. The ligand CHDTC is also labelled with $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4^-$ directly by using FSA (formamidine sulfinic acid) as reduction agent. The biodistribution results in mice suggest $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$ is mostly accumulated in liver , whereas the heart and brain uptake is very low. This fact proves that the introduction of the $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}} \text{N}]^{2+}$ core into the molecular structure of a radiopharmaceutical may obviously alter its biological behavior.

Key words : $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-CHDTC}$; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-CHDTC}$; radiopharmaceutical; heart and brain uptake; biodistribution

(上接第 17 页 ,continued from page 17)

Abstract : Using keronese as diluent , U() and Th() can be extracted effectively by N ,N-di (1-methylheptyl) acetamide (DMHAA) from nitric acid solutions. The effects of the concentration of the nitric acid , salting-out agents in aqueous phase and the extractant in organic phase on distribution ratios are examined. Under the same conditions , the distribution ratio of U() is higher than that of Th() . The extraction mechanism are discussed.

Key words : N ,N-di (1-methylheptyl) acetamide; extraction; U(); Th()