

文章编号:0253-9950(2001)03-0153-06

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-MCHI}$ 的制备及生物分布

张现忠, 周金明, 王学斌

(北京师范大学 化学系, 北京 100875)

摘要:合成了一种新的异腈配体 2-甲基环己基异腈(MCHI)及其铜络盐,并经红外光谱和元素分析等表征予以确认。通过配体交换反应制备了放化纯大于 95% 的中性脂溶性配合物 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-MCHI}$,它在室温下可稳定 6 h 以上。生物分布实验结果表明: $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-MCHI}$ 在正常小鼠的心、脑中均有一定的摄取和滞留,但血本底高。同时制得了另一种配合物 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-MCHI}$,它与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-MCHI}$ 的对比研究结果表明,二者在小鼠体内的生物分布有明显不同。

关键词: 2-甲基环己基异腈(MCHI); $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ 核; 血池显像剂; 生物分布; 异腈配合物
中图分类号: O615.4 **文献标识码:** A

用 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}(\text{V})\text{N}]^{2+}$ 核取代配合物的 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{V})=\text{O}]^{3+}$ 或 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{I})]^{+}$ 中心核后,该配合物的生物性能会发生明显改变^[1]。对此,文献[1~4]报道了多种具有不同中心核的配合物。1984年,Baldas和Bonnyman等^[2]首次制得了无载体的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ 核配合物。他们的方法是首先制备 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{N})\text{NCl}_4^{-}$ 中间体,再经还原取代反应制备 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{V})\text{N}]^{2+}$ 核配合物。但此法条件苛刻,操作繁琐,难以达到临床上要求的无菌无热源条件。1990年以来,Pasqualini等^[5]发展并完善了一种更方便有效地制备无载体 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{V})\text{N}]^{2+}$ 核配合物的方法。即以 SnCl_2 或三(间-磺基苯基)膦(TPPS)为还原剂,在供氮体 N-甲基二硫代胍基甲酸甲酯(DTCZ)、二硫代胍基甲酸甲酯(MDTC)或琥珀酰胍(SDH)的存在下制备 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{V})\text{N}]^{2+}$ 核中间体,其中 DTCZ,MDTC和SDH同时又是配体。然后通过配体交换反应制得 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ 核配合物。此法相对简单,容易达到无菌无热源要求,大大促进了 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ 核放射性药物的发展。

异腈配体是一类电子给予体和电子接受体,因而可以制得稳定的金属配合物。对异腈配体的结构进行修饰可改变配合物的化学行为,特别是脂溶性。通过对一系列异腈配合物生物性能的研究,发现某些 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记异腈配合物具有血液浓集高,清除慢, $R(T/NT)$ 比值较高的特点。本文旨在通过改变异腈配体的结构和标记配合物的中心核,深入研究 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记异腈配合物,以期获得标记方法简单、标记率高以及生物性能优良的新型血池显像剂,并通过对具有不同中心核的配合物的比较研究考察 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ 核对配合物性能的影响。

收稿日期:2000-06-27; 修订日期:2000-11-24

作者简介:张现忠(1973-),男,安徽霍邱人,讲师,博士研究生,无机化学专业

1 实验部分

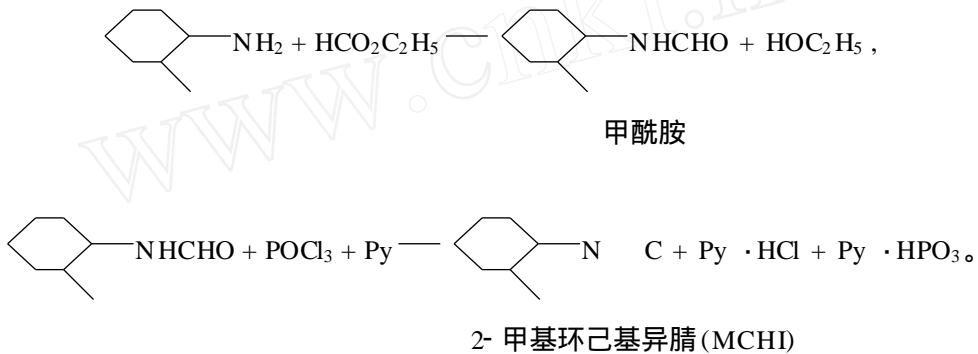
1.1 仪器与试剂

甲酸乙酯(化学纯),北京市旭东化工厂生产;氯化氧磷(分析纯),北京顺义县李遂化工厂生产;2-甲基环己胺,98%,Aldrich 公司生产;二硫代胍基甲酸甲酯,四乙腈络铜氟硼酸盐,自制; $^{99}\text{Mo}-^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 发生器,中国原子能科学研究院产品;其它试剂均为国产分析纯。

260-50 型红外谱仪,日本日立制作所产品;240C 型元素分析仪,美国 P-E 公司产品;FH-463 型自动定标器,FT-603 阱型探头,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 SHIMADZU 公司产品。

1.2 配体 2-甲基环己基异腈(MCHI)的合成

1.2.1 合成路线 根据文献[6,7]的方法合成:



1.2.2 合成步骤

(1) 甲酰胺的合成。将 35.2 mmol 的甲酸乙酯(约 2.60 g)慢慢滴加到冰浴冷却的 40 mmol 2-甲基环己基胺中,当放热反应停止后,将反应液回流 2 h,用 25 cm 韦氏分馏柱减压蒸馏,收集到的产品为无色透明粘稠液体。称重,计算产率。

(2) 2-甲基环己基异腈(MCHI)的合成。将 0.03 mol 甲酰胺和 0.19 mol 吡啶(Py,约 15 mL,新蒸)以及 9 mL 石油醚(30~60)依次加入到 100 mL 三口瓶中,在冰水浴中及搅拌下滴加 2.76 g(约 0.018 mol) POCl_3 。滴加完毕后,回流 10 min。将反应液冷却,滴加 24 mL 冰水,搅拌至固体全溶。分出有机相,水相用石油醚洗涤 3 次,每次 10 mL。与有机相合并后,用水洗涤 3 次,每次 10 mL。最后用适量无水 CaSO_4 将有机相干燥过夜。次日,将干燥剂滤出,进行减压蒸馏。先以水泵减压,除去低沸点的溶剂,然后换用油泵减压,收集到的产品为无色透明液体,有恶臭。称重,计算产率。

(3) 异腈铜络盐($\text{Cu}(\text{I})(\text{MCHI})_4\text{BF}_4$)的制备。取 1 mL 乙醇到小烧杯中,加入 0.5 mL 新制备的 2-甲基环己基异腈(MCHI),再加入 0.4 g 四乙腈络铜氟硼酸盐,搅拌至全部溶解,此时异腈的恶臭气味消失,溶液呈无色。将上述溶液滴入约 2 mL 水至微浑,静置,缓慢析出无色油状液体,用乙醇-水重结晶。真空干燥后,油状液体固化为无色晶体。

1.3 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记配合物的制备

1.3.1 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N-MCHI}$ 的制备 按文献[4]方法制备。将 1~4 mL 约 18.5~185 MBq

⁹⁹Tc^mO₄⁻淋洗液加入到含 0.5 mL 二硫代胍基甲酸甲酯(MDTC)-乙醇溶液(20 mmol/L)和 0.1 mL SnCl₂·2H₂O-盐酸溶液(含 0.1 mg SnCl₂·2H₂O 和 3.6 mg 柠檬酸钠)的西林瓶中,置于沸水浴中反应 15 min,得到中间体溶液。冷却后用 0.2 mL 磷酸盐缓冲液(pH = 7.0)调中间体溶液 pH 至 5.0~6.0,然后将 0.5 mL Cu(I)(MCHI)₄BF₄ 乙醇溶液(2.0 g/L)加到中间体溶液中,混匀后沸水浴加热 15 min,即得到所需的⁹⁹Tc^mN-MCHI 配合物。

1.3.2 ⁹⁹Tc^m-MCHI的制备 将 1~4 mL 约 18.5~185 MBq ⁹⁹Tc^mO₄⁻淋洗液加入到含 0.5 mL Cu(I)(MCHI)₄BF₄ 乙醇溶液(2.0 g/L)和 0.1 mL SnCl₂·2H₂O-盐酸溶液(含 0.1 mg SnCl₂·2H₂O 和 3.6 mg 柠檬酸钠)的西林瓶中,置于沸水浴中反应 15 min,即得到⁹⁹Tc^m-MCHI 配合物。

1.4 层析鉴定与体外稳定性实验

用三种展开体系鉴定⁹⁹Tc^mN-MCHI。体系 1:展开剂为 V(乙醇) V(氯仿) V(甲苯) V(0.5 mol/L 醋酸铵) = 6 3 3 1,载体为聚酰胺薄膜;体系 2:展开剂为 V(二氯甲烷) V(甲醇) = 9 1,载体为层析纸;体系 3:展开剂为乙腈,载体为聚酰胺薄片。以体系 3 鉴定⁹⁹Tc^m-MCHI的生成。各组份的 R_f 值列入表 1。将两种配合物溶液在室温下放置不同时间测定纯化率,分别观察二者的体外稳定性。

表 1 ⁹⁹Tc^mN-MCHI 和⁹⁹Tc^m-MCHI 的层析鉴定结果

Table 1 Results of TLC for ⁹⁹Tc^mN-MCHI and ⁹⁹Tc^m-MCHI complexes

组份 (components)	R _f		
	体系 1(system 1)	体系 2(system 2)	体系 3(system 3)
⁹⁹ Tc ^m O ₄ ⁻	0.0~0.1	0.0~0.1	0.3~0.5
⁹⁹ Tc ^m O ₂ ·xH ₂ O	0.0~0.1	0.0~0.1	0.0~0.1
[⁹⁹ Tc ^m N] _{int} ²⁺	0.0~0.1, 0.7~0.9	0.9~1.0	0.0~0.1
⁹⁹ Tc ^m N-MCHI	0.9~1.0	0.9~1.0	0.9~1.0
⁹⁹ Tc ^m -MCHI			0.9~1.0

1.5 脂水分配比的测定

取 0.1 mL (约 1.11 MBq) ⁹⁹Tc^mN-MCHI 和⁹⁹Tc^m-MCHI 配合物溶液,分别加入到含 2.0 mL 正辛醇和 2.0 mL 蒸馏水的 10 mL 离心试管中,盖好后充分振荡 5 min,然后离心 5 min,分别取有机相和水相各 0.1 mL 置于干净试管中,在阱型 探测器上测其放射性计数(C),计算分配比 D(C_有/C_水)。重复操作 2~3 次后取平均值即为该配合物的分配比。

1.6 小鼠体内的生物分布实验

在正常昆明小鼠(体重约 20 g)的尾静脉分别注射 0.1 mL (约 1.11 MBq) ⁹⁹Tc^mN-MCHI 和⁹⁹Tc^m-MCHI 配合物溶液,然后于注射后不同时间(5~60 min)将小鼠断头处死。取其血,心,肝,肺,肾和脑等有关组织和器官,擦净后称重,并在阱型 探头中测其放射性计数,计算各组织的每克百分注射剂量(ID/(%·g⁻¹))和百分注射剂量((A_v/A_T)/%)。百分之一注射剂量的计算是取 0.1 mL (注射量)配合物溶液,稀释至 100 倍后再分别取 0.1 mL 于三支小试管中,在测量组织放射性计数的同时测量其放射性计数,百分之一剂量为三支小试管中放射性计

数的平均值。

2 结果和讨论

2.1 配体的合成

MCHI 配体合成的中间产物(甲酰胺)的沸点为 121 ~ 123 (666.61 Pa), 产率为 87 %; 红外光谱(IR)的分析结果为: (N—H) = 3 274 cm^{-1} , (C=O) = 1 662 cm^{-1} , (C—N) = 1 541 cm^{-1} 。配体 MCHI(2-甲基环己基异脲)的沸点为 48 ~ 52 (399.97 ~ 666.61 Pa), 产率为 67 %, 红外光谱(IR)的特征峰为: (N—C) = 2 183 cm^{-1} 。异脲铜络盐(Cu(I)(MCHI)₄BF₄)元素分析测定值为: C, 60.45 %; H, 8.63 %; N, 8.92 %, 理论计算值为: C, 59.76 %; H, 8.15 %; N, 8.71 %。

2.2 配合物的制备及理化性质

两种具有不同中心核配合物的放化纯均大于 95 %, 且在室温下放置 6 h 以上放化纯无明显变化。⁹⁹Tc^mN-MCHI 和 ⁹⁹Tc^m-MCHI 的脂水分配比分别为 49.10 和 213.69, 均为脂溶性配合物。根据文献[8]可确定该配合物为中性六配位配合物, 组成为 ⁹⁹Tc^mNCl₂(MCHI)₃。

2.3 生物分布实验结果

两种配合物在正常小鼠体内的生物分布实验结果分别列入表 2, 3。由表 2 可见, ⁹⁹Tc^mN-MCHI 在小鼠体内有一定的心、脑摄取, 而肝、肺、血的摄取相对更高, 故不宜用于心、脑显像。若通过对异脲配体的结构修饰, 改变配合物的理化性质, 可望获得具有较高 R(T/NT) 值的心、脑显像剂。

由表 3 可见, ⁹⁹Tc^m-MCHI 在小鼠的心、脑中也有一定的摄取, 但同样存在肝、肺、血摄取高的缺点, 因而不适于心、脑显像。与 ⁹⁹Tc^m-MCHI 相比, ⁹⁹Tc^mN-MCHI 在小鼠血、肺和心肌中的清除速度明显较快, 且肾摄取也较高, 可能因其脂溶性较低所致。

表 2 ⁹⁹Tc^mN-MCHI 在小鼠体内分布
Table 2 Biodistribution of ⁹⁹Tc^mN-MCHI in mice

组织 (tissues)	ID/ (% g ⁻¹)			(A _t /A _T)/ %		
	5 min	30 min	60 min	5 min	30 min	60 min
心(heart)	8.03 ±2.33	5.90 ±1.48	4.85 ±2.10	1.01 ±0.12	1.03 ±0.26	0.75 ±0.08
肝(liver)	26.90 ±3.00	38.10 ±5.50	36.00 ±4.27	24.30 ±1.97	27.10 ±4.97	31.00 ±1.60
肺(lung)	39.80 ±3.10	43.50 ±18.10	29.50 ±8.60	7.60 ±1.01	7.72 ±2.98	6.39 ±0.40
肾(kidney)	11.20 ±0.80	13.90 ±2.30	12.90 ±0.97	2.84 ±0.55	3.41 ±0.57	3.13 ±0.68
脑(brain)	1.39 ±0.08	1.30 ±0.26	1.08 ±0.14	0.62 ±0.01	0.52 ±0.08	0.51 ±0.01
血(blood)	51.30 ±0.40	48.80 ±10.00	36.90 ±1.63	71.80 ±0.28 *	68.30 ±13.90 *	36.90 ±1.63 *

注(notes): * 全血重量按体重 7 % 计, 下同(the weight of whole blood is 7 % of the animal, same as the follow); n = 3

表 3 ⁹⁹Tc^m-MCHI 在小鼠体内分布
Table 3 Biodistribution of ⁹⁹Tc^m-MCHI in mice

组织 (tissues)	ID/ (% g ⁻¹)			(A _i /A _T)/ %		
	5 min	30 min	60 min	5 min	30 min	60 min
心(heart)	8.59 ±2.09	8.32 ±1.65	12.10 ±1.70	0.73 ±0.26	0.78 ±0.14	1.11 ±0.22
肝(liver)	17.40 ±1.20	25.40 ±2.01	25.80 ±0.60	17.70 ±0.90	24.20 ±2.36	23.90 ±2.55
肺(lung)	32.00 ±1.80	40.30 ±9.40	28.70 ±5.00	4.50 ±0.10	6.55 ±2.10	6.65 ±2.65
肾(kidney)	8.54 ±1.66	9.85 ±2.01	10.90 ±0.90	2.06 ±0.44	2.38 ±0.35	2.99 ±0.05
脑(brain)	1.21 ±0.15	1.25 ±0.14	1.16 ±0.09	0.54 ±0.01	0.68 ±0.04	0.52 ±0.04
血(blood)	42.50 ±2.40	38.90 ±4.47	44.40 ±4.50	59.50 ±3.43	54.50 ±6.26	62.30 ±6.23

注(note): n = 3

由表 2,3 可见,两种配合物在小鼠的血液中均有很高的浓集,且⁹⁹Tc^m-MCHI 的滞留也很好。两种配合物的 R (血/其它组织) 比值列入表 4。从表 4 看出,在注射后 60 min, R (血/非靶) 都具有较高的比值,可望用于血池显像。若通过进一步调整异腈配体的结构,改变配合物的性能,有可能获得生物性能优良的放射性药物。

表 4 ⁹⁹Tc^mN-MCHI 和⁹⁹Tc^m-MCHI 在小鼠体内血与脏器的摄取比值
Table 3 R (blood/ NT) of ⁹⁹Tc^mN-MCHI and ⁹⁹Tc^m-MCHI in mice

R	⁹⁹ Tc ^m N-MCHI			⁹⁹ Tc ^m -MCHI		
	5 min	30 min	60 min	5 min	30 min	60 min
血/心(blood/ heart)	6.39	8.27	7.61	4.95	4.68	3.67
血/肺(blood/ lung)	1.29	1.12	1.25	1.33	0.97	1.55
血/肝(blood/ liver)	1.91	1.28	1.03	2.44	1.53	1.72
血/脑(blood/ brain)	36.91	37.54	34.17	35.12	31.12	38.28
血/肾(blood/ kidney)	4.58	3.51	2.86	4.98	3.95	4.07

3 结 论

(1) 参考有关文献合成了一种新的化合物:2-甲基环己基异腈(MCHI)及其铜络盐(Cu(I)(MCHI)₄BF₄),并经红外光谱和元素分析等表征予以确认。

(2) 用配体交换法制备了一种新的⁹⁹Tc^mN 核配合物。该配合物为脂溶性中性配合物,放化纯大于 95%,在室温下可稳定存在 6 h 以上。

(3) 动物实验结果表明:该配合物在正常小鼠体内的心,脑中均有一定的摄取,且滞留较好。但在血中滞留也很高,因而不适合用于心,脑显像。若适当修饰配体结构,可望改善配合物的生物性能。但值得注意的是该配合物及其相应的⁹⁹Tc^m(I) 标记配合物在血液中都具有很高的浓集和很好的滞留,且都有较高的 R (血/非靶) 比值,因而有望发展为一种新的血池显像剂。

参考文献:

- [1] MANG 'ERA K O , VANBILLOEN H P ,BELLANDE E , et al. Influence of a $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ Core on the Biological and Physicochemical Behavior of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ Complexes of L , L-EC and L , L-ECD [J]. Nucl Med Biol , 1996 , 23 :987 ~ 993.
- [2] BALDAS J , BONNYMAN J. Substitution Reactions of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{NCl}_4^-$ -a Route to a New Class of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -Radiopharmaceuticals [J]. Int J Appl Radiat Isot , 1985 , 36 :133 ~ 139.
- [3] 张现忠,王学斌,张俊波. $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ -MIBI 的制备及其生物分布研究[J]. 同位素,1997,10(3):158~162.
- [4] 张现忠,王学斌,张俊波. 新型心肌显像剂 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ -TBI 的初步研究[J]. 北京师范大学学报(自然科学版),1997,33:239~242.
- [5] PASQUALINI R , BELLANDE E , COMAZZI V , et al. A New Efficient Method for the Preparation of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -Radiopharmaceuticals Containing the Tc N Multiple Bond [J]. Int J Appl Radiat Isot , 1992 , 43 : 1 329 ~ 1 333.
- [6] FIESER M , FIESER L F. Reagents for Organic Synthesis[M]. Vol. 2. New York:John Wiley & Sons Inc , 1969. 50.
- [7] UGI I , MEYER R , LIPINSKI M , et al. Organic Syntheses[M]. Vol. 41. New York:John Wiley & Sons Inc , 1961. 13.
- [8] 张现忠,王学斌. $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ -MIBI 的电荷性质及其与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI 的比较[J]. 核化学与放射化学,2000,22(1):55~59.

SYNTHESIS AND BIODISTRIBUTION OF A NEW TECHNETIUM- $^{99\text{m}}$ NITRIDO COMPLEX WITH 2-METHYL CYCLOHEXYL ISONITRILE

ZHANG Xian-zhong , ZHOU Jir-ming , WANG Xue-bin

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

Abstract : An isonitrile ligand , 2-methyl cyclohexylisonitrile (MCHI) is synthesized and a copper salt ($\text{Cu}(\text{I})(\text{MCHI})_4\text{BF}_4$) of this ligand is also prepared. The isonitrile and its copper salt are characterized by IR and elemental analysis. The complex $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ -MCHI is prepared by ligand exchange reaction. The results of partition coefficient and stability studies indicate that the complex is lipophilic and stable over a period of 6 h at room temperature. Biodistribution of this new complex in mice show that it has certain uptake in myocardium and brain and retained there for a certain time. But also it is taken up in blood highly. Besides , the complex $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MCHI is prepared and it has different characteristics with $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ -MCHI complex.

Key words : 2-methyl cyclohexylisonitrile ; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{N}$ core ; blood pool imaging agent ; biodistribution ; isonitrile complex