

文章编号:0253-9950(2009)04-0212-05

Re/⁹⁹Tc^m(CO)₃-EPBI与Aβ_(1~40)结合能力的测定及生物分布

杨 洋, 刘 莹, 韩美娇, 张家新, 韩 梅, 王科志, 朱 霖*

放射性药物教育部重点实验室, 北京师范大学 化学学院, 北京 100875

摘要:为发展钨-99m 标记的阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)早期诊断显像药物,在荧光测定法基础上,建立了体外荧光法测定羰基铼配合物与 Aβ_(1~40) 淀粉样纤维结合的解离常数 K_d 的方法。同时,合成了配体 2-(1-乙基苯并咪唑)吡啶(EPBI)及其铼的配合物 Re(CO)₃Cl(EPBI),测定后者与体外缠结 Aβ_(1~40) 结合的解离常数 K_d ;采用直接标记法制备 EPBI 的 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺ 配合物,并研究配合物 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 的理化性质及生物分布。结果表明,Re(CO)₃Cl(EPBI)与 Aβ_(1~40) 结合的解离常数 $K_d=13.3 \mu\text{mol/L}$;正常小鼠体内生物分布研究表明,化合物 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 的脑初始(2 min 内)摄取值为 $(0.63 \pm 0.17) \% \text{ID/g} (n=3)$,在脑内清除较快,120 min 时,摄取值为 $(0.27 \pm 0.03) \% \text{ID/g} (n=3)$ 。

关键词:阿尔茨海默病;荧光;Re/[⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI; K_d ; Aβ_(1~40); 生物分布

中图分类号:R817 文献标志码:A

Binding Affinity of Re(CO)₃Cl(EPBI) for Aβ_(1~40) Aggregates and Evaluation of [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI

YANG Yang, LIU Ying, HAN Mei-jiao, ZHANG Jia-xin, HAN Mei, WANG Ke-zhi, ZHU Lin*

Key Laboratory of Radiopharmaceuticals, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

Abstract: The aim of this paper was to develop potential technetium 99m-labeled diagnostic imaging agents specific for the detection of Aβ plaques. Based on previously obtained Aβ plaque-specific biphenyls containing a benzimidazol group, ⁹⁹Tc^m and Re-benzimidazol derivatives, [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI and Re(CO)₃Cl(EPBI), were prepared. The latter showed binding affinities towards Aβ_(1~40) aggregates *in vitro* ($K_d=13.3 \mu\text{mol/L}$) by fluorophotometry. 2-(1-Ethylbenzimidazol-2-yl)pyridine(EPBI) and Re(CO)₃Cl(EPBI) were synthesized. Binding affinity of Re(CO)₃Cl(EPBI) for Aβ_(1~40) aggregates was determined. [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI was prepared and analyzed by HPLC and paper eletrophoresis. Its biodistribution in mice was obtained. The K_d value of Re(CO)₃Cl(EPBI) is $13.3 \mu\text{mol/L}$. Biodistribution of [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI in mice shows brain penetration $(0.63 \pm 0.17) \% \text{ID/g} (n=3)$ at 2 min after iv injection in mice and rapid washout from normal brains $(0.27 \pm 0.03) \% \text{ID/g} (n=3)$ at

收稿日期:2008-04-11;修订日期:2009-02-23

基金项目:国家“973”项目(2006CB500705);国家自然科学基金资助项目(20371008,90401007);新医药学科群建设资助项目(XK100270569)

作者简介:杨 洋(1982—),男,黑龙江哈尔滨人,博士研究生,放射性药物研究方向

* 通讯联系人

120 min. It may provide a new strategy to design the early diagnosis radiopharmaceuticals of AD labeled by [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺ core according to the result.

Key words: Alzheimer's disease; fluorescence; Re/[⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI; K_d; Aβ_(1~40); bio-distribution

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)又称老年性痴呆症,是由于大脑细胞退化而导致思维能力逐渐丧失的一种疾病。Aβ_(1~40)是该疾病的早期病理学特征^[1]。目前为止,尸检仍是诊断AD的唯一可靠标准^[2-5],但采用体外荧光方法也可以找到与Aβ_(1~40)有较高特异性结合的配体分子。该法原理是当配体分子与Aβ_(1~40)纤维作用时,由于后者具有较大的黏性而限制了配体分子的旋转,使配体分子形成刚性平面结构,提高量子产率,使荧光发射光的强度增强^[6]。用该方法可以定量评价化合物与Aβ_(1~40)的结合能力,得到抑制常数 K_i 或解离常数 K_d 值。

硫磺素-T 常用作 AD 尸检,其结构示于图 1。

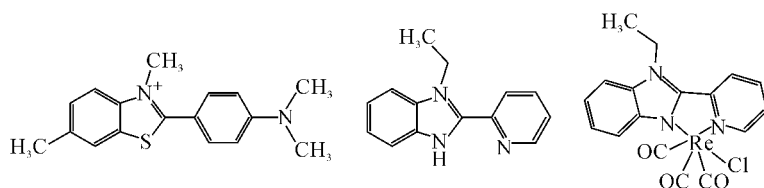


图 1 硫磺素-T, EPBI, Re(CO)₃Cl(EPBI) 的结构

Fig. 1 Structures of ThT, EPBI, Re(CO)₃Cl(EPBI)

1 实验部分

1.1 主要仪器和试剂

二维微量 HPLC, 日本岛津公司; HQ-60 漩涡混合器, SHK-02-1 空气恒温摇床, 北京北方同正生物技术有限公司; 日立 H600 透射电子显微镜, 日本日立制作所株式会社; Fluorolog Tau-3 荧光分光光度计, 法国 J-Y 公司; AR1140 电子分析天平, 感量 0.000 1 g, 美国 OHAUS 公司。

Aβ_(1~40), 分析纯, 香港(巴根)公司; 硫磺素-T (盐酸盐)、PBS 溶液(pH=7.4, 1.0 mol/L)和 EDTA, 分析纯, 美国 Sigma 公司; 磷钨酸, 分析纯, 北京新兴百瑞技术有限公司; 正辛醇, 分析纯, 北京试剂公司; EPBI 和配合物 Re(CO)₃Cl(EPBI), 自制^[7-8]; 昆明雌鼠, 北京大学医学部。

1.2 实验条件

HPLC 分析系统: 色谱柱为 C-18 反向柱, 洗脱梯度: 溶液 A 是含 0.1% 三氟乙酸(TFA)的

目前很多与 Aβ 具有高亲和性的化合物在结构上与其十分相似。本工作为探索新的⁹⁹Tc^m 标记的 Aβ 斑块显像剂, 以硫磺素-T 的分子骨架为基础, 设计合成了 EPBI 以及配合物 Re(CO)₃Cl(EPBI) (图 1)。以 Re(CO)₃Cl(EPBI) 为指导, 利用 Re 与 Tc 核素性质上的相似点, 用 EPBI 对 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺ 核心进行标记, 并用 R-HPLC、纸电泳等方法研究标记产物的理化性质。同时研究了 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 在正常小鼠体内的生物分布性质, 以为发展应用于 AD 早期诊断的 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺ 核心标记的药物提供新的设计思路。

水; 溶液 B 是含 0.1% TFA 的乙腈。方法是: 0→20 min, 100% A→100% B; 20→25 min, 100% B, 流速 0.9 mL/min。

1.3 Aβ_(1~40) 纤维的形成

将 1 mg Aβ_(1~40) 溶于 2 mL PBS(pH=7.4) 溶液中, 得到 0.5 g/L 的 Aβ 溶液, 向溶液中加入 EDTA(1 mmol/L) 后将上述溶液置于恒温摇床内, 在 37 °C 下, 350 r/min 摇动 72 h。

透射电镜观察: 以磷钨酸(2%, pH=7.4)作负染剂, 用透射电镜在三万倍下观察 Aβ 的形态。

硫磺素-T 荧光增强验证 Aβ_(1~40) 纤维的形成: (1) 取硫磺素-T(7 μmol/L) 溶液 300 μL, 加到 350 μL 的比色皿中; (2) 取硫磺素-T 溶液(7 μmol/L) 0.5 mL, 加入 5 μL Aβ_(1~40) 纤维溶液, 摇匀, 静置 1 min, 取上述溶液 300 μL 加到 350 μL 的比色皿中。在荧光分光光度计中, 以 450 nm 波长的荧光激发^[9], 狭缝为 3 nm, 在发射波长 483 nm 分别测定(1)组和(2)组的荧光强度。

1.4 Re-EPBI 与 $A\beta_{(1\sim40)}$ 结合的 K_d 值的测定

配制 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 $\mu\text{mol/L}$ Re-EPBI 的 PBS 溶液 ($\text{pH}=7.4$), 对每种浓度的溶液作如下操作: (1) 用移液枪取 Re-EPBI 溶液 300 μL , 加到 350 μL 的比色皿中; (2) 取 Re-EPBI 溶液 500 μL , 加入 5 μL $A\beta$ 溶液, 摇匀, 静置 1 min, 移液枪取 300 μL 加到 350 μL 的比色皿中。

在荧光分光光度计中, 激发波长 420 nm, 狭缝宽 4 nm, 测上述 2 组溶液荧光强度 (积分峰面积)。浓度由低到高对以上溶液进行测定。每个浓度的溶液平行做 3 份, 每份测 3 次, 以 2 组溶液荧光强度差值的倒数为纵坐标, 以 Re-EPBI 浓度的倒数为横坐标, 作双倒数图, 得到 K_d 值。

1.5 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^+$ 的放射性标记

1.5.1 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 中间体的制备

按文献[10-12]方法, 将 20 mg 硼氢化钠, 4 mg 碳酸钠, 15 mg 酒石酸钾钠装入一个西林瓶中, 密封后通入 CO 气体 30 min, 将瓶中空气排净, 压好铝盖备用。用注射器向制备好的 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^+$ 中间体药盒中加入新淋洗的高锝酸钠溶液 (1 mL, 约 2 700 MBq)。100 $^\circ\text{C}$ 水浴反应 10 min, 冷却至室温, 用 0.1 mol/L HCl 调节 $\text{pH}=7$, 备用。

1.5.2 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^+$ -EPBI 的制备 配制 $\text{pH}=1$ 的 EPBI (1 $\mu\text{mol/L}$) 溶液, 移取 0.5 mL 配体溶液分别放入西林瓶中, 加入 0.1 mL 上述制备的 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 中间体溶液, 用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节溶液的 $\text{pH}=7$, 室温下放置 10 min。

1.5.3 放化纯分析 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 中间体和 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^+$ -EPBI 配合物的放射化学纯度采用 HPLC 分析方法进行测定。

1.5.4 配合物电荷的测定 将放化纯大于 99% 的 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^+$ -EPBI 配合物溶液点样于新华一号滤纸, 置于 0.06 mol/L 磷酸缓冲溶液 ($\text{pH}=7.4$) 介质中展开。电泳电压为 150 V, 电场强度为 20 V/cm, 展开时间为 4 h。测定各标记化合物的放射性分布, 分别计算移向正极、负极及滞留原点组分的相对百分比。

1.5.5 配合物脂水分配系数的测定 将 0.1 mL $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^+$ -EPBI 溶液加入到含有 2 mL 正辛醇与 1.9 mL PBS 缓冲溶液 ($\text{pH}=7.4$) 的离心试管中, 充分混合后离心分层, 分别取等体积的有机相和水相溶液测定其放射性计数, 由有机相和水相计数比的对数计算 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^+$ -EPBI 的

脂水分配系数。

1.5.6 配合物的生物分布研究 取 18~25 g 雌性昆明小鼠 15 只, 尾静脉注射 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^+$ -EPBI 溶液 0.1 mL (1 GBq/L), 分别于注射后 2, 15, 30, 60, 120 min 将其断颈处死, 取心、肝、脾、肺、肾、肌肉、骨组织、脑、血液, 称重并测定放射性计数, 计算每克组织的百分注射剂量率 ($\% \text{ID/g}$)。

2 结果和讨论

2.1 $A\beta_{(1\sim40)}$ 纤维的制备

$A\beta_{(1\sim40)}$ 聚集前后的电镜图像示于图 2。由图 2 可知, 在透射电镜下观察到 $A\beta_{(1\sim40)}$ 聚集成了纤维状结构。硫磺素-T 溶液的荧光图示于图 3。由图 3 可知, 在硫磺素-T 溶液中加入 $A\beta_{(1\sim40)}$ 纤维后, 溶液的荧光强度明显增强也表明 $A\beta_{(1\sim40)}$ 纤维的形成。

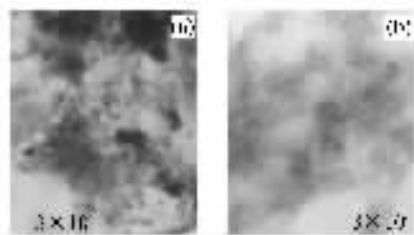


图 2 $A\beta_{(1\sim40)}$ 聚集前(a)、后(b)的电镜图像

Fig. 2 Monomer(a) and aggregates(b) of $A\beta_{(1\sim40)}$

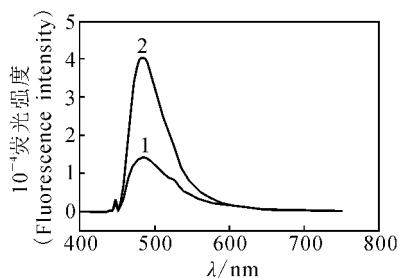


图 3 7 $\mu\text{mol/L}$ 硫磺素-T 溶液荧光图

Fig. 3 Fluorescence intensity of thioflavin-T

1——未加 $A\beta_{(1\sim40)}$ (Absence of $A\beta_{(1\sim40)}$),
2——加 $A\beta_{(1\sim40)}$ (Existence of $A\beta_{(1\sim40)}$)

2.2 Re-EPBI 与 $A\beta_{(1\sim40)}$ 结合的解离常数 K_d

以 Re-EPBI 的浓度为横坐标, 以 Re-EPBI 与 $A\beta_{(1\sim40)}$ 结合后和结合前的荧光强度差值 (ΔF) 为纵坐标, 作图示于图 4。以 Re-EPBI 浓度的倒数为横坐标, 以 Re-EPBI 与 $A\beta$ 结合后和结合前的荧光强度差值 (ΔF) 的倒数为纵坐标, 作双倒数图, 示于图 5。由图 5 可知, 直线与 x 轴的交点为

$-1/K_d = -0.07$, 得到 $K_d = 13.3 \mu\text{mol/L}$ 。Re(CO)₃Cl(EPBI)与体外 Aβ_(1~40) 的结合实验表明有微摩尔级的结合能力 ($K_d = 13.3 \mu\text{mol/L}$), 与文献[9]中硫磺素-T 与 Aβ_(1~40) 结合的解离常数 ($K_d = 2 \mu\text{mol/L}$) 在同一数量级, 这可能是因为二者的结构较相似。但和报道的铼配合物^[13]相比, $13.3 \mu\text{mol/L}$ 的解离常数还是不够理想。

与放射性测定方法相比, 荧光法可不受作用靶点的影响和限制, 避免了不明结合靶点化合物抑制剂无法选择的困难, 可作为此类⁹⁹Tc^m 放射性药物新药初步靶向结合的筛选方法; 但一旦确定 Re 配合物靶向结合的存在后, 必须通过放射性⁹⁹Tc^m 标记物的放射性方法测定结合的强弱, 从而真正反映微量放射性⁹⁹Tc^m 标记物的真实结合情况, 这样类推到其它核素标记的药物也同样适用。

2.3 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-L 的标记及理化性质研究

2.3.1 HPLC 分析 按文献[10-12]制备的 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺ 中间体的放化纯大于 99%; 在室温下中性溶液中, 配体 EPBI 很容易与 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺ 进行标记, 标记率大于 99%。高锝酸钠、[⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺ 中间体、配合物 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 的 HPLC 分析示于图 6。由图 6 可知, 高锝酸钠的 $t_R = 3.20 \text{ min}$; 中间体的

$t_R = 15.00 \text{ min}$ 和 16.30 min ; 配合物的 $t_R = 18.90 \text{ min}$ 。

2.3.2 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 电荷的测定 配合物 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 电荷分布如下: 阴极, 2%; 原点, 97%; 阳极, 1%。电荷分布结果表明, [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 为电中性, 这是化合物进入脑组织的前提。

2.3.3 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 脂水分配系数的测定 分别取等体积的有机相和水相溶液测定放射性计数, 计算 pH = 7.4 时, [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 的脂水分配系数 (lg P), 结果为 -0.128, 说明 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 脂溶性偏低, 不利于配合物进入脑组织。

2.4 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 的生物分布

[⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 在正常小鼠体内的生物分布结果列入表 1。表 1 结果表明, [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI 在正常小鼠脑中的初始摄取与 ⁹⁹Tc^m 标记的 AD 显像剂 [⁹⁹Tc^m] 23A (2 min; 1.18 %ID/g)^[14] 相比较低, 2 min 内只有 (0.63 ± 0.17) %ID/g, 但清除较快, 120 min 时为 (0.27 ± 0.03) %ID/g; 在肝和肾中的摄取很高, 且清除很慢, 120 min 时肝和肾的摄取分别为 (41.59 ± 5.14), (33.24 ± 4.63) %ID/g; 肺和血液中也较高摄取, 但清除较快。

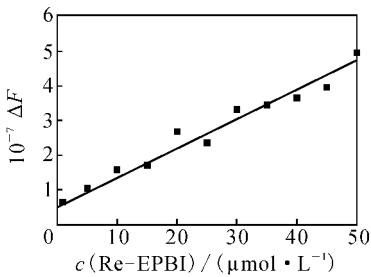


图 4 Re-EPBI 的浓度-荧光强度图
Fig. 4 Illustration of Re-EPBI concentration-fluorescence intensity

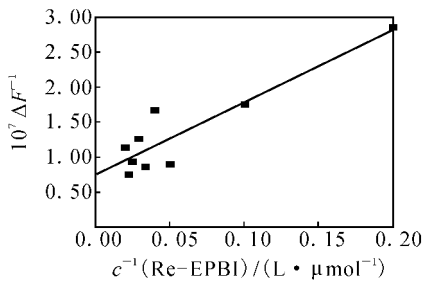


图 5 Re-EPBI 与 Aβ_(1~40) 结合双倒数图
Fig. 5 Double reciprocal of Re-EPBI band with Aβ_(1~40)
λ = 529 nm

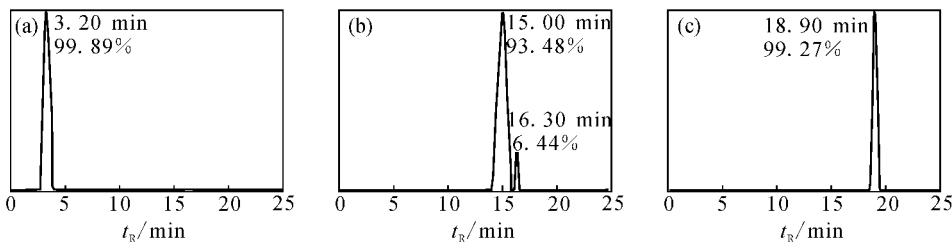


图 6 高锝酸钠(a), [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺(b), 配合物 [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI (c) 的 HPLC 分析

Fig. 6 HPLC analysis of sodium pertechnetate (a), [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺ (b), and [⁹⁹Tc^m(CO)₃]⁺-EPBI (c)

3 结 论

采用荧光法测定了配合物 $\text{Re}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{EPBI})$ 与体外缠结 $\text{A}\beta_{(1\sim40)}$ 结合的解离常数 $K_{\text{d}} = 13.3\ \mu\text{mol/L}$,并研究了 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^{+}$ -EPBI 的

理化性质和其在正常小鼠体内的生物分布,为发展应用于 AD 早期诊断的 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^{+}$ 核心标记药物提供了新的设计思路。目前正在将这种荧光测定方法用于一系列化合物的 $\text{A}\beta$ 靶向筛选研究。

表 1 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^{+}$ -EPBI 在小鼠体内的分布
Table 1 Biodistribution of $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^{+}$ -EPBI in mice

组织(Tissues)	每克组织百分注射剂量率(Percentage of the injected dose per gram of tissue mass)/(%ID · g ⁻¹)				
	2 min	15 min	30 min	60 min	120 min
脑(Brain)	0.63±0.17	0.42±0.06	0.38±0.05	0.25±0.05	0.27±0.03
血(Blood)	13.19±0.64	8.14±0.41	6.20±0.62	4.36±1.58	3.98±0.35
心(Heart)	8.95±0.96	5.88±0.56	6.08±1.16	5.36±0.61	4.97±0.18
肝(Liver)	43.06±4.16	44.38±8.30	42.23±4.76	45.00±4.00	41.59±5.14
脾(Spleen)	9.57±1.83	9.43±3.22	7.88±0.79	7.17±0.66	6.95±2.60
肺(Lung)	24.36±1.36	15.07±1.24	13.33±2.30	9.68±0.66	8.66±2.50
肾(Kidney)	38.41±2.82	37.87±4.39	35.60±4.11	32.29±4.00	33.24±4.63
肌肉(Muscle)	2.74±0.38	3.52±1.84	2.57±0.22	2.55±1.20	2.08±0.46
骨组织(Bone)	3.33±1.87	3.25±1.04	3.37±0.88	2.01±0.75	2.25±0.40

注(Note): $n=3$

参考文献:

[1] 王武尚,张锦明,刘伯里. AD 脑 $\text{A}\beta$ 放射性显像剂的研究进展[J]. 同位素,2004, 4(17): 232-240.

[2] Wengenack T M, Curran G L, Poduslo J F. Targeting Alzheimer's Amyloid Plaques *in Vivo* [J]. Nat Biotechnol, 2000, 18(8): 868-872.

[3] Hiroshi S, Takahiro S, Masako S, et al. A Novel Probe for Imaging Amyloid- β : Synthesis of F-18 Labelled BF-108, an Acridine Orange Analog[J]. J Label Compd Radiopharm, 2003, 46(8): 765-772.

[4] Lee C W, Kung M P, Hou C, et al. Dimethylamino-Fluorenes: Ligands for Detecting β -Amyloid Plaques in the Brain[J]. Nucl Med Biol, 2003, 30(6): 573-580.

[5] Masahiro O, Mamoru H, Morio N, et al. Synthesis and Biological Evaluation of (E)-3-Styrylpyridine Derivatives as Amyloid Imaging Agents for Alzheimer's Disease[J]. Nucl Med Biol, 2005, 32(4): 329-335.

[6] Voropai E S, Samtsov M P, Kaplevskii K N, et al. Spectral Properties of Thioflavin T and Its Complexes With Amyloid Fibrils[J]. J Appl Spectrosc, 2003, 70(6): 868-874.

[7] Huang L, Wang K Z, Huang C H, et al. Bright Red Electroluminescent Devices Using Novel Second-Ligand-Contained Europium Complexes as Emitting Layers[J]. J Mater Chem, 2001, 11(3): 790-793.

[8] Wang Kezhi, Huang Ling, Gao Lihua, et al. Synthesis, Crystal Structure, and Photoelectric Properties of $\text{Re}(\text{CO})_3\text{CIL}$ ($\text{L} = 2\text{-(1-Ethylbenzimidazol-2-yl) Pyridine}$) [J]. Inorg Chem, 2002, 41(13): 3 353-3 358.

[9] Harry L. Thioflavine T Interaction With Synthetic Alzheimer's Disease {beta}-Amyloid Peptides: Detection of Amyloid Aggregation in Solution[J]. Protein Sci, 1993, 2(3): 404-410.

[10] Alberto R, Schibli R, Schubiger P A, et al. A Novel Organometallic Aqua Complex of Technetium for the Labeling of Biomolecules: Synthesis of $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^{+}$ From $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4]^{-}$ in Aqueous Solution and Its Reaction With a Bifunctional Ligand[J]. J Am Chem Soc, 1998, 120(31): 7 987-7 988.

[11] 张小波,朱 霖,赵学颖,等. $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^{+}$ 标记的新双功能联接剂的研究[J]. 核化学与放射化学,2004, 26(1): 11-18.

[12] Yang Y, Zhang J X, Zhu L, et al. Two Novel Procedures of Preparation for $[\text{Tc}(\text{CO})_2(\text{NO})]^{2+}$ Labeled by EHIDA and Its Biodistribution[J]. J Radioanal Nucl Ch, 2007, 273(1): 31-36.

[13] Zhen W G, Han H Y, Lansbury P T, et al. Synthesis and Amyloid Binding Properties of Rhenium Complexes: Preliminary Progress Toward a Reagent for SPECT Imaging of Alzheimer's Disease Brain[J]. J Med Chem, 1999, 42(15): 2 805-2 815.

[14] Zhuang Z P, Kung M P, Kung H F, et al. Biphenyls Labeled With Technetium 99m for Imaging β -Amyloid Plaques in the Brain[J]. Nucl Med Biol, 2005, 32(2): 171-184.