

文章编号:0253-9950(2011)06-0363-07

两个 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记胸苷衍生物 在小鼠体内分布的比较

陆春雄^{1,2}, 蒋泉福¹, 唐 婕¹, 谭 成¹, 张健康¹

1. 江苏省原子医学研究所 卫生部核医学重点实验室/江苏省分子核医学重点实验室, 江苏 无锡 214063;

2. 江南大学 化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214122

摘要: 为了找到适合肿瘤显像的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记胸苷衍生物, 制备了 2 个标记物 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT, 标记率均大于 95%, 且稳定性好。生物分布结果显示: $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 主要经肾脏代谢, 在体内清除比较迅速; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 注射 60 min 后, 荷瘤鼠体内肿瘤的放射性摄取与肌肉、骨和血的放射性摄取的比值达到较高值, 分别为 1.58 ± 0.17 、 1.95 ± 0.31 和 1.17 ± 0.08 ; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 在小鼠体内肝脏和肾脏的放射性摄取很高, 说明其主要经肝脏和肾脏代谢, 体内的清除相对较慢; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 注射 120 min 后, 荷瘤鼠体内肿瘤的放射性摄取与肌肉、骨和血的放射性摄取的比值达到较高值, 分别为 4.41 ± 0.32 、 2.45 ± 0.24 和 1.51 ± 0.18 。因此, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 虽然在体内清除比 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 缓慢, 但 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 在肿瘤的放射性摄取相对较高, 可能是潜在的 SPECT 肿瘤显像剂, 值得进一步研究。

关键词: $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记; 胸苷衍生物; 生物分布

中图分类号: R817 **文献标志码:** A

Comparison of Biodistribution of Two $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -Labeled Thymidine Analogs in Mice

LU Chun-xiong^{1,2}, JIANG Quan-fu¹, TANG Jie¹, TAN Cheng¹, ZHANG Jian-kang¹

1. Key Laboratory of Nuclear Medicine, Ministry of Health /Jiangsu Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Wuxi 214063, China;

2. School of Chemical & Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

Abstract: To develop novel technetium-99m-labeled thymidine analog for tumor SPECT imaging, two $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -labeled thymidine analogs ($^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU and $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT) were synthesized. $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU and $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT are stable in aqueous solution and radiochemical purity are over 95%. Biodistribution of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU in tumor-bearing mice shows that the high uptake of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU in kidney and the clearance is fast. At 60 min p. i., the ratios of tumor-to-muscle, tumor-to-bone and tumor-to-blood are 1.58 ± 0.17 , 1.95 ± 0.31 and 1.17 ± 0.08 , respectively. Biodistribution of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT in mice shows that the high uptake of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT in liver and kidney, indicating that the clearance of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT is mainly

收稿日期:2011-04-18; 修订日期:2011-07-05

基金项目:江苏省自然科学基金资助项目(BK2008112);江苏省卫生厅资助项目(H200624)

作者简介:陆春雄(1975—),男,江苏无锡人,副研究员,药物化学专业

through the hepatobiliary pathway and the renal pathway. At 2 h p. i., the ratios of tumor-to-muscle, tumor-to-bone and tumor-to-blood are 4.41 ± 0.32 , 2.45 ± 0.24 and 1.51 ± 0.18 , respectively. These indicate that $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT is probably a potential SPECT tumor imaging agent and further study is needed.

Key words: $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -labeled; thymidine analog; biodistribution

目前,临床常用的肿瘤显像剂是氟(^{18}F)标记的 2-脱氧-2-氟葡萄糖(^{18}F -FDG),是葡萄糖的类似物。然而, ^{18}F -FDG 不是肿瘤的特异显像剂,因为还有很多其它细胞摄取葡萄糖比正常细胞高,如在炎症灶处发现的巨噬细胞^[1]。另外,由于脑中的葡萄糖代谢很旺盛,所以 ^{18}F -FDG 不适合脑部肿瘤的显像。因此,研究者们不断研发其它可供选择的肿瘤显像剂,如显示肿瘤增殖的放射性标记的胸苷衍生物:3'-脱氧-3'-氟胸苷^[2](^{18}F -FLT,结构式如图 1 所示)。但是, ^{18}F 需要加速器生产,而且 ^{18}F 标记的分子探针需要在特殊防护的热室中制备,这使得 ^{18}F 标记的分子探针价格比较昂贵,广大病人还难以承受。而锝($^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$)是 SPECT 显像中使用最普遍的放射性核素,由钼-锝发生器产生,价格低廉,而且有显像需要的理想核素特性(半衰期 6 h,能量 140 keV)^[3]。因此,很多研究小组^[4-7]对胸苷结构进行各种修饰,希望找到适合肿瘤显像的锝标记胸苷衍生物。

本工作拟对胸苷嘧啶环的 5 位和 N-3 位进行修饰,得到 2 个新的锝标记胸苷衍生物的前体{2-巯基乙基-[2-(2-巯基乙基氨基)乙酰基]氨基}-甲基-2'-脱氧尿苷(简称 ANMdU)和 N^3 -{ N' -(2-巯基乙基氨基)乙酰基}-2-氨基乙基巯基-1-己酰胺基}-胸苷(简称 NHT)进行标记,得到 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT(结构式如图 1 所示)。通过考察 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 在荷瘤鼠体内的生物分布,评价它们作为肿瘤显像剂的

可能性。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

β -胸苷,纯度大于 99%,新乡拓新生化科技有限公司;对甲基苯甲酰氯和 6-溴己酰氯,百灵威(J&K)化学试剂有限公司;其他化学试剂均为国产分析纯。鼠源性肝癌 HepA 腹水、ICR 小鼠,均由江苏省原子医学研究所提供。

MALDI SYNAPT Q-TOF MS 质谱仪,美国 Waters 公司;AVANCE III 400 MHz 核磁仪,瑞士 Bruker 公司;C5002 γ -计数器,美国 PACKARD-COBRA 公司;Yanadimoto 熔点仪,日本株式会社,温度未校正。

1.2 实验方法

1.2.1 ANMdU 的合成 ANMdU 的合成及其鉴定等参见文献[7]的报道。

1.2.2 NHT 的合成 合成路线图示于图 2。

(1) 3',5'-二(对甲基苯甲酰酯基)-胸苷(化合物 1)的合成

取 8 g β -胸苷和 1 g 4-二甲氨基吡啶(DMAP)加入到 500 mL 三颈烧瓶中,加入 250 mL 二氯甲烷,在搅拌条件下,滴加 10 mL 对甲基苯甲酰氯,滴毕,加热至回流,直至反应溶液变澄清,将反应液冷却至室温,用水洗涤,有机相干燥浓缩后,用二氯甲烷/乙酸乙酯(体积比为 1:1)重结晶,得 13.8 g 白色晶体。产物产率为 87.34%;熔点为 202~204 $^{\circ}\text{C}$ 。

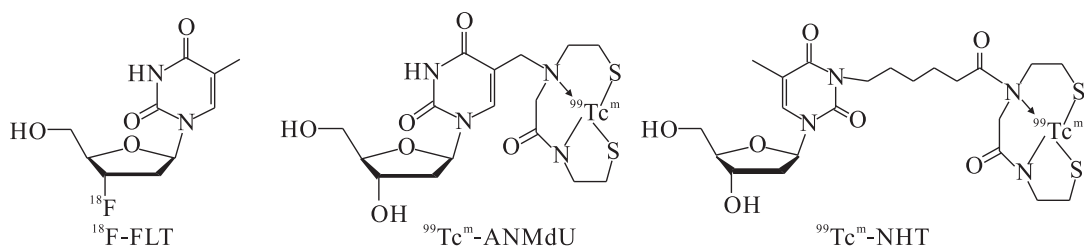


图 1 ^{18}F -FLT、 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 的结构式

Fig.1 Structure of ^{18}F -FLT, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU and $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT

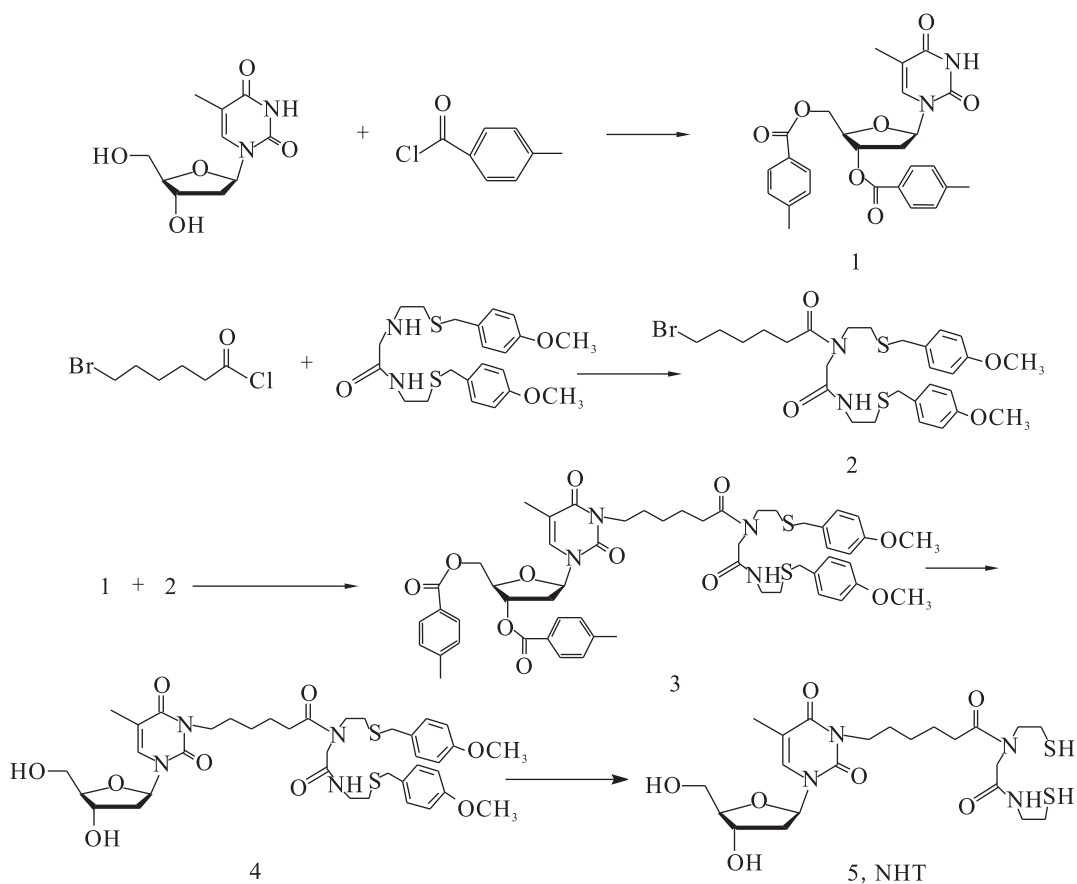


图 2 NHT 的合成路线

Fig. 2 Scheme for synthesis of NHT

(2) N-[2-(2-(S-(4-甲氧基苄基)巯基)乙基氨基)乙酰基]-S-(4-甲氧基苄基)-2-氨基乙基巯基]-6-溴-1-己酰胺(化合物 2)的合成

在通氮气条件下,取 2 g N-[2-(2-(S-(4-甲氧基苯基)巯基)乙基氨基)乙酰基]-S-(4-甲氧基苯基)-2-氨基乙基硫醇和 0.6 g DMAP 溶于 50 mL CH_2Cl_2 中,于 0℃ 滴加 1 g 6-溴己酰氯,滴毕,反应液温度逐渐升至室温,继续搅拌反应 4 h,分别加水 and 饱和 NaHCO_3 溶液洗涤,有机层用无水 Na_2SO_4 干燥,浓缩过硅胶柱,洗脱剂为 CH_2Cl_2 ,得 2 g 白色固体。熔点为 79~81℃。

(3) N-[N'-[2-(2-(S-(4-甲氧基苄基)巯基)乙基氨基)乙酰基]-S-(4-甲氧基苄基)-2-氨基乙基巯基-1-己酰胺基]-3',5'-二(对甲基苯甲酰酯基)-胸苷(化合物 3)的合成

在通氮气条件下,取 0.2 g 化合物 1, 0.17 g 化合物 2 和 2 g K_2CO_3 加入到 100 mL 烧瓶中,加入 50 mL DMF/丙酮(体积比为 1 : 1)的混合液,于 50 °C 搅拌反应 20 h,将反应液冷至室温,过滤,将滤液蒸干后用 100 mL 乙酸乙酯溶解,加水洗

漆,有机层用无水 Na_2SO_4 干燥,浓缩过硅胶柱,洗脱剂为乙酸乙酯/石油醚(体积比为 1 : 1),得白色固体 0.27 g,产率为 96.4%。

(4) N-{N'-[2-(2-(S-(4-甲氧基苄基)巯基)乙基氨基)乙酰基]-S-(4-甲氧基苄基)-2-氨基乙基巯基-1-乙酰氨基}-胸苷(化合物4)的合成

取 0.26 g 化合物 3, 加入 30 mL 0.27 mol/L 的甲醇钠甲醇溶液, 室温搅拌反应 1 h, 蒸干甲醇, 加 50 mL 水和 50 mL 氯仿振荡, 分出有机层, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 浓缩过硅胶柱, 洗脱剂为氯仿/甲醇(体积比为 1 : 1), 得白色泡沫状固体 0.16 g, 产率为 86.0%。

(5) N-{N'-[(2-巯基乙基氨基)乙酰基]-2-氨基乙基巯基-1-己酰胺基}-胸苷(化合物 5,NHT)的合成

在冰水浴条件下,将 0.15 g 化合物 4 溶于 5 mL 三氟乙酸中,加入 0.17 g 醋酸汞和 0.26 mL 苯甲醚,反应液呈棕色,将反应液逐渐升至室温,在室温继续搅拌 30 min,抽干溶剂,得深紫色油状物,真空干燥 30 min,加入 15 mL 干燥乙醚,搅拌 10 min,倾去乙醚,真空干燥 30 min,用 15 mL 乙

醇溶解干燥物,通硫化氢气体 20 min 后,4 000 r/min 离心 5 min 取出上清液浓缩,得淡黄色油状物 0.09 g,即标记前体 NHT,产率为 68.7%。

1.2.3 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 的制备 取 30 μg 标记前体 (ANMdU 或者 NHT),溶于 30 μL 乙醇中,加入 80 μL 10 g/L 葡庚糖酸钠溶液、80 μL 10 g/L 乙二胺四乙酸溶液、15 μL 5 g/L 氯化亚锡溶液,再加入 1 mL (74 MBq) 高锝酸钠淋洗液 ($\text{Na}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4$),密闭,摇匀后于 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 30 min,冷却后点样,以聚酰胺薄膜为载体,甲苯/乙腈/甲醇(体积比为 3:1:1)为展开剂。

1.2.4 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 的稳定性研究 将制备得到的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 通过 0.22 μm 的无菌滤膜制成 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 注射液,分别于 0、1、2、3、4、5、6 h 测定放射化学纯度。

1.2.5 肝癌 HepA 荷瘤鼠的制备 抽取保种小鼠体内的肝癌 HepA 腹水,用生理盐水稀释 4 倍。取 0.2 mL 腹水溶液(约 2×10^6 个肿瘤细胞)经皮下注射,接种于小鼠的右前肢腋下,正常饲养一周左右,肿瘤直径大约 0.8 cm,备下一步实验。

1.2.6 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 正常小鼠体内分布 取 ICR 小鼠 25 只,分为 5 组,每组 5 只,经尾静脉注射 0.2 mL (3.7×10^6 Bq) $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT,分别于注射后 5、30、60、120、180 min 断头处死。解剖取出脑、肿瘤、心、肝、脾和肺等脏器,称重后测量放射性计数,计算每克组织百分注射剂量率。

1.2.7 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 在肝癌 HepA 荷瘤鼠体内分布 取荷瘤鼠 25 只,分为 5 组,每组 5 只,经尾静脉注射 0.2 mL (3.7×10^6 Bq) $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU(或 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT),分别于注射后 5、30、60、120、180 min 断头处死。解剖取出脑、肿瘤、心、肝、脾和肺等脏器,称重后测量放射性计数,计算每克组织百分注射剂量率。

2 结果和讨论

2.1 NHT 的合成

以 β -胸苷为起始原料,经多步反应合成得到标记前体 NHT,反应的总收率为 34.68%。

化合物 1 的 MS(m/z): 479 ($M+H$), 501 ($M+Na$)。 ^1H NMR (CDCl_3 , δ): 8.22 (s, 1H), 7.93 (t, 4H), 7.29 (t, 4H), 7.26 (s, 1H), 6.43 ~ 6.48 (q, 1H), 5.64 (d, 1H), 4.64 ~ 4.81 (dd, 2H), 4.52 (q, 1H), 2.70 (m, 1H), 2.43 (d, 6H), 2.28 ~ 2.33 (m, 1H), 1.62 (s, 3H)。

化合物 2 的 MS(m/z): 611, 613 ($M+H$), 633, 635 ($M+Na$)。 ^1H NMR (CDCl_3 , δ): 8.25 (s, 1H), 7.25 (m, 4H), 6.85 (m, 4H), 4.01 (s, 1H), 3.89 (s, 1H), 3.76 (s, 6H), 3.70 (s, 2H), 3.68 (m, 2H), 3.40 ~ 3.48 (m, 4H), 3.30 (s, 2H), 2.50 ~ 2.61 (m, 4H), 2.28 ~ 2.38 (m, 2H), 1.82 (m, 2H), 1.60 (m, 2H), 1.45 (m, 2H)。

化合物 3 的 MS(m/z): 1 009 ($M+H$)。 ^1H NMR (CDCl_3 , δ): 8.23 (s, 1H), 7.93 (q, 4H), 7.22 ~ 7.23 (m, 8H), 7.20 (s, 1H), 6.83 (m, 4H), 6.49 (m, 1H), 5.62 (d, 1H), 4.64 ~ 4.78 (dd, 2H), 4.51 (d, 1H), 3.89 (s, 2H), 3.86 (s, 2H), 3.78 (s, 6H), 3.66 (d, 4H), 3.32 ~ 3.42 (m, 4H), 2.69 (dd, 2H), 2.49 ~ 2.60 (m, 4H), 2.42 (d, 6H), 2.22 ~ 2.32 (m, 2H), 1.64 (s, 3H), 1.56 (m, 4H), 1.33 ~ 1.37 (m, 2H)。

化合物 4 的 MS(m/z): 773 ($M+1$), 795 ($M+Na$)。 ^1H NMR (CDCl_3 , δ): 8.32 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.22 (m, 4H), 6.83 (m, 4H), 6.65 (t, 1H), 6.16 (m, 1H), 4.58 (m, 1H), 3.98 (dd, 2H), 3.93 (m, 2H), 3.89 (m, 2H), 3.78 (s, 6H), 3.65 ~ 3.68 (m, 4H), 3.32 ~ 3.42 (m, 4H), 2.49 ~ 2.62 (m, 4H), 2.42 (m, 2H), 2.25 ~ 2.32 (m, 2H), 2.22 (m, 1H), 2.05 (s, 1H), 1.91 (s, 3H), 1.65 (m, 4H), 1.35 (m, 2H)。

化合物 5 的 MS(m/z): 533 ($M+1$), 555 ($M+Na$)。 ^1H NMR (CD_3OD , δ): 8.25 (s, 1H), 7.82 (m, 1H), 6.31 (t, 1H), 4.37 ~ 4.42 (m, 1H), 4.16 (s, 1H), 3.97 (dd, 2H), 3.92 (m, 2H), 3.73 ~ 3.80 (m, 2H), 3.61 (m, 2H), 3.5 (m, 1H), 3.33 ~ 3.43 (m, 4H), 3.22 (m, 1H), 2.59 ~ 2.73 (m, 4H), 2.42 ~ 2.53 (m, 2H), 2.16 ~ 2.33 (m, 2H), 1.91 (s, 3H), 1.58 ~ 1.74 (m, 4H), 1.35 ~ 1.42 (m, 2H)。

2.2 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 的制备

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 的标记率均大于 95%, 锝胶体的 R_f 值为 0 ~ 0.1, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 的 R_f 值为 0.6 ~ 0.7, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 的 R_f 值为 0.5 ~ 0.6。

2.3 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 的稳定性

结果表明, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 6 h 内稳定,放射化学纯度仍然大于 93%。

2.4 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 肝癌 HepA 荷瘤鼠体内分布

如表 1 所示, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 在肾脏中的放射性摄取最高,膀胱次之,说明其主要是经肾脏代谢,

且⁹⁹Tc^m-ANMdU 在体内的清除很快,肝、肾、膀胱和血的 5 min 时的放射性摄取与 60 min 时放射性摄取的比值分别为 4.22、3.13、4.21 和 12.06,这与⁹⁹Tc^m-ANMdU 在正常小鼠体内分布相一

致^[7]。⁹⁹Tc^m-ANMdU 注射 60 min 后,荷瘤鼠体内肿瘤的放射性摄取与肌肉、骨和血的放射性摄取的比值达到较高值,分别为 1.58±0.17、1.95±0.31 和 1.17±0.08。

表 1 ⁹⁹Tc^m-ANMdU 在荷瘤(HepA)小鼠体内分布
Table 1 Biodistribution of ⁹⁹Tc^m-ANMdU in tumor-bearing (HepA) mice

器官 (Organs)	每克组织百分注射剂量率(Percentage of the injected dose per gram of tissue mass)/(%ID • g ⁻¹)				
	5 min	30 min	60 min	120 min	180 min
脑(Brain)	0.37±0.02	0.12±0.02	0.05±0.01	0.02±0.00	0.01±0.00
心(Heart)	4.57±0.47	0.97±0.07	0.28±0.03	0.11±0.00	0.06±0.02
肝(Liver)	6.03±0.49	2.64±0.44	1.43±0.24	0.93±0.15	0.47±0.21
脾(Spleen)	2.81±0.18	0.61±0.08	0.24±0.05	0.07±0.01	0.03±0.00
肺(Lung)	5.08±0.30	1.36±0.08	0.55±0.34	0.29±0.02	0.21±0.03
肾(Kidney)	18.08±0.64	6.91±0.45	5.77±1.78	1.97±0.08	0.88±0.03
胃(Stomach)	2.55±0.28	0.50±0.13	0.22±0.94	0.14±0.06	0.07±0.03
小肠(Small intestines)	3.82±0.72	2.68±0.28	1.57±0.05	1.21±0.07	0.33±0.13
膀胱(Bladder)	8.00±0.83	3.64±0.60	1.90±0.13	0.88±0.13	0.19±0.02
肿瘤(Tumor)	3.03±0.31	1.03±0.09	0.41±0.02	0.17±0.03	0.06±0.01
肌肉(Muscle)	2.65±0.31	0.67±0.19	0.26±0.18	0.12±0.02	0.06±0.01
骨(Bone)	1.75±0.28	0.46±0.14	0.21±0.09	0.11±0.05	0.08±0.03
血(Blood)	4.22±0.73	1.06±0.16	0.35±0.26	0.17±0.01	0.10±0.02
肿瘤/肌肉(Tumor-to-muscle) *	1.14±0.24	1.53±0.36	1.58±0.17	1.42±0.01	0.99±0.22
肿瘤/骨(Tumor-to-bone) *	1.73±0.12	2.23±0.54	1.95±0.31	1.55±0.42	0.74±0.04
肿瘤/血(Tumor-to-blood) *	0.72±0.05	0.97±0.09	1.17±0.08	1.01±0.12	0.61±0.06

注(Note):n=5; *,量纲为 1(Unit is 1)

2.5 ⁹⁹Tc^m-NHT 在正常小鼠和肝癌 HepA 荷瘤鼠体内分布

⁹⁹Tc^m-NHT 在正常小鼠和肝癌 HepA 荷瘤鼠体内分布结果列入表 2、表 3。由表 2、3 可知:⁹⁹Tc^m-NHT 在正常小鼠和荷瘤鼠体内肝脏和肾脏中的放射性摄取最高,说明其主要经肝脏和肾脏代谢;⁹⁹Tc^m-NHT 在体内的清除相对较慢,在荷瘤鼠体内,肝、肾、膀胱和血的 5 min 时的放射性摄取与 60 min 时放射性摄取的比值分别为 1.55、1.28、1.83 和 2.02,低于⁹⁹Tc^m-ANMdU 在体内的清除速度(4.22、3.13、4.21 和 12.06),但与¹⁸F-FLT 在小鼠体内的清除速度接近^[8]。值得注意的是,⁹⁹Tc^m-NHT 在脾脏中的放射性摄取较高,且在 60 min 时达到最大,这是因为脾脏中细胞增殖比较旺盛,与¹⁸F-FLT 在脾脏中的放射性摄取增加相一致^[8]。⁹⁹Tc^m-NHT 注射 120 min 后,荷瘤鼠体内肿瘤的放射性摄取

与肌肉、骨和血的放射性摄取的比值达到较高值,分别为 4.41±0.32、2.45±0.24 和 1.51±0.18,高于¹⁸F-FLT 注射 60 min 后肿瘤与肌肉、骨和血的放射性摄取比值^[9]1.53、0.47、1.48。

2.6 讨论

人们在不断探索⁹⁹Tc^m标记胸苷衍生物作为肿瘤显像剂的潜力,较早的是 2004 年 Zhang 等^[6]对 2'-脱氧-2'-氟代尿苷的 5 位进行修饰,通过戊烯基与 N2S2 配基连接,与⁹⁹Tc^m的标记率为 42%,放射化学纯度为 98%。2007 年有多篇文献报道有关⁹⁹Tc^m标记胸苷衍生物的研究,如 Teng 等^[4]对胸苷的 3' 位进行修饰,通过胍基烟酰胺(HYNIC)和其他配基一起进行⁹⁹Tc^m标记,放射化学纯度大于 97%。这两篇文献都只报道合成和标记方面,而没有生物学的评价和显像。Celen 等^[3]对胸苷的 N-3 位进行修饰,通过丙基连接 N2S2 配基,认为由于⁹⁹Tc^m标记的基团太大,导致⁹⁹Tc^m标记

胸苷衍生物对胸苷激酶(TK)的亲性和降低,显像结果不佳;然而,Desbouis 等^[5]研究发现,5'位进行修饰通过长链连接⁹⁹Tc^m的胸苷衍生物与 TK 有很好的亲和性。这说明可能胸苷母体结构与⁹⁹Tc^m标记基团之间的距离比⁹⁹Tc^m标记基团尺寸大小,对胸苷衍生物和 TK 亲和性的影响更大。

表 2 ⁹⁹Tc^m-NHT 在正常小鼠体内分布
Table 2 Biodistribution of ⁹⁹Tc^m-NHT in normal mice

器官 (Organs)	每克组织百分注射剂量率(Percentage of the injected dose per gram of tissue mass)/(%ID • g ⁻¹)				
	5 min	30 min	60 min	120 min	180 min
脑(Brain)	0.34±0.06	0.12±0.02	0.10±0.01	0.08±0.02	0.06±0.02
心(Heart)	3.27±1.09	1.42±0.22	1.30±0.29	1.22±0.28	0.52±0.12
肝(Liver)	30.44±1.29	24.60±1.42	21.72±1.28	17.06±2.05	13.97±1.48
脾(Spleen)	4.78±0.84	5.74±0.82	6.25±0.10	4.36±0.70	4.16±0.96
肺(Lung)	7.52±1.01	4.60±0.66	4.57±0.65	2.59±0.60	2.14±0.52
肾(Kidney)	25.43±1.44	20.60±1.51	18.87±0.87	18.33±1.74	10.45±2.46
胃(Stomach)	1.61±0.40	1.20±0.19	1.19±0.21	1.07±0.31	0.56±0.05
小肠(Small intestines)	2.34±0.47	2.17±0.71	1.53±0.50	1.02±0.20	0.44±0.16
膀胱(Bladder)	3.75±1.11	1.57±1.10	1.56±0.13	1.41±0.20	0.62±0.26
肌肉(Muscle)	1.11±0.16	0.66±0.11	0.42±0.07	0.28±0.06	0.15±0.04
骨(Bone)	1.40±0.25	0.82±0.19	0.62±0.14	0.52±0.11	0.37±0.08
血(Blood)	7.45±0.89	3.10±0.84	2.99±0.61	2.64±0.64	1.10±0.26

注(Note): n=5

表 3 ⁹⁹Tc^m-NHT 在荷瘤(HepA)小鼠体内分布
Table 3 Biodistribution of ⁹⁹Tc^m-NHT in tumor-bearing (HepA) mice

器官 (Organs)	每克组织百分注射剂量率(Percentage of the injected dose per gram of tissue mass)/(%ID • g ⁻¹)				
	5 min	30 min	60 min	120 min	180 min
脑(Brain)	0.29±0.02	0.19±0.05	0.10±0.03	0.09±0.01	0.07±0.01
心(Heart)	2.09±0.42	1.64±0.46	0.90±0.26	0.69±0.13	0.65±0.08
肝(Liver)	28.10±0.45	22.23±0.66	18.11±1.75	15.22±1.70	11.25±0.46
脾(Spleen)	5.26±0.63	3.51±0.71	6.33±0.85	4.32±0.98	3.99±0.90
肺(Lung)	7.02±0.76	6.89±0.53	5.24±0.23	4.61±0.95	3.89±0.70
肾(Kidney)	20.17±2.80	18.39±1.72	15.80±0.76	15.69±1.39	13.46±1.95
肿瘤(Tumor)	1.69±0.52	1.55±0.37	1.57±0.22	1.59±0.51	1.49±0.22
胃(Stomach)	1.57±0.16	1.35±0.49	1.20±0.13	0.93±0.27	0.73±0.33
小肠(Small intestines)	2.41±0.11	2.22±0.29	1.78±0.17	1.15±0.05	0.92±0.37
膀胱(Bladder)	2.82±0.46	2.74±0.53	1.54±0.21	1.36±0.24	0.82±0.33
肌肉(Muscle)	0.78±0.13	0.55±0.17	0.40±0.07	0.36±0.13	0.28±0.05
骨(Bone)	0.97±0.05	0.85±0.29	0.72±0.10	0.65±0.07	0.52±0.09
血(Blood)	3.62±0.87	2.45±0.61	1.79±0.50	1.05±0.18	1.00±0.08
肿瘤/肌肉(Tumor-to-muscle) *	2.18±0.34	2.80±0.33	3.91±0.37	4.41±0.32	5.37±0.65
肿瘤/骨(Tumor-to-bone) *	1.75±0.50	1.82±0.15	2.17±0.23	2.45±0.24	2.41±0.29
肿瘤/血(Tumor-to-blood) *	0.47±0.04	0.63±0.03	0.87±0.13	1.51±0.18	1.29±0.17

注(Note): n=5; *, 量纲为 1(Unit is 1)

本工作的 ANMdU 是胸苷母体结构在 5 位通过 1 个亚甲基与 N2S2 配基相连,胸苷母体结构与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记基团之间的距离很近;NHT 是胸苷母体结构在 N-3 位通过 1 个六碳链与 N2S2 配基相连,胸苷母体结构与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记基团之间的距离比 ANMdU 的大,而且 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 在肿瘤的放射性摄取与肌肉、骨和血的放射性的比值高于 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 相应的比值。这说明随着胸苷母体结构与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记基团之间距离的增大,可能可以增加胸苷衍生物对 TK 的亲 and 性。

3 结 论

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 在荷瘤鼠体内主要经肾脏代谢,且在体内清除迅速,但在肿瘤和血的放射性比值不高; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 在小鼠体内清除比 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU 缓慢,但 120 min 时肿瘤中的放射性摄取较高,肿瘤和肌肉、骨及血的放射性比值分别为 4.41 ± 0.32 、 2.45 ± 0.24 和 1.51 ± 0.18 , $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -NHT 可能是潜在的 SPECT 肿瘤显像剂,值得进一步研究。

参考文献:

- [1] Blasberg R G. Molecular Imaging and Cancer[J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2003, 2: 335-343.
- [2] Been L B, Suurmeijer A J, Cobben D C, et al. [^{18}F]FLT-PET in Oncology: Current Status and Opportunities[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2004, 31(12): 1 659-1 672.
- [3] Celen S, de Groot T, Balzarini J, et al. Synthesis and Evaluation of a $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MAMA-Propyl-Thymidine Complex as a Potential Probe for *in Vivo* Visualization of Tumor Cell Proliferation With SPECT[J]. Nucl Med Biol, 2007, 34(3): 283-291.
- [4] Teng B, Bai Y, Chang Y, et al. Technetium-99m-Labeling and Synthesis of Thymidine Analogs: Potential Candidates for Tumor Imaging [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17(12): 3 440-3 444.
- [5] Desbouis D, Schubiger P A, Schibli R. Synthesis of Tricarbonyl Rhenium and Technetium Complexes of a 5'-Carboxamide 5-Ethyl-2'-Deoxyuridine for Selective Inhibition of Herpes Simplex Virus Thymidine Kinase 1[J]. J Organomet Chem, 2007, 692(6): 1 340-1 347.
- [6] Zhang Y, Dai X, Kallmes D F, et al. Synthesis of a Technetium-99m-Labeled Thymidine Analog: A Potential HSV1-TK Substrate for Non-Invasive Reporter Gene Expression Imaging[J]. Tetrahedron Lett, 2004, 45(47): 8 673-8 676.
- [7] Lu C, Jiang Q, Yu H, et al. Preparation and Preliminary Biological Evaluation of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -ANMdU [J]. Nucl Sci Tech, 2010, 21(2): 106-109.
- [8] 陆春雄,王正武,蒋泉福,等. ^{18}F -FLT 的制备及其 microPET 显像[J]. 同位素,2008,21(3):145-149.
- [9] Lee T S, Ahn S H, Moon B S, et al. Comparison of ^{18}F -FDG, ^{18}F -FET and ^{18}F -FLT for Differentiation Between Tumor and Inflammation in Rats[J]. Nucl Med Biol, 2009, 36(6): 681-686.