

靶向单羧酸转运蛋白分子探针 [¹⁸F]FEO-CHC 的制备与初步显像

王红亮, 杨 柳, 赵琦南, 秦开心, 施冬梅, 郑钰州

山西医科大学第一医院 核医学科, 山西 太原 030001

摘要:以单羧酸转运体(monocarboxylic acid transporters, MCTs)的小分子抑制剂 α -氰基-4-羟基-肉桂酸(α -cyano-4-hydroxy-cinnamic acid, CHC)为先导化合物,设计合成了新型¹⁸F标记的氟乙氧基修饰的 α -氰基-4-羟基-肉桂酸探针([¹⁸F]FEO-CHC),并对其进行了初步的体内外稳定性和肿瘤 PET/CT 显像研究。以 α -氰基-4-(2-对甲苯磺酰氧乙氧基)-肉桂酸甲酯为前体化合物,经与¹⁸F⁻进行亲核反应得到中间体化合物 α -氰基-4-(2-[¹⁸F]-氟乙氧基)-肉桂酸甲酯([¹⁸F]4),经过高效液相色谱分离纯化,中间体[¹⁸F]4经 2 mol/L NaOH 溶液水解后用 1 mol/L HCl 溶液中和,得到 α -氰基-4-(2-[¹⁸F]-氟乙氧基)-肉桂酸([¹⁸F]FEO-CHC, [¹⁸F]5)。细胞增殖抑制实验结果表明,化合物[¹⁸F]5 较 CHC 具有更好的细胞增殖的抑制活性。[¹⁸F]5 表现出较好的体内外稳定性和生物安全性,并且 DU145 前列腺癌荷瘤小鼠 Micro-PET/CT 显像显示[¹⁸F]5 在肿瘤处具有明显的放射性浓聚特征。[¹⁸F]FEO-CHC 具有合成过程简单、稳定性好、生物安全性高,且具有肿瘤 PET 显像能力,是一种潜在可靶向 MCTs 的小分子 PET 显像剂。

关键词:单羧酸转运蛋白;代谢共生; α -氰基-4-羟基-肉桂酸;PET 显像探针;放射化学合成

中图分类号:R817.9 **文献标志码:**A **文章编号:**0253-9950(2023)03-0259-08

doi:10.7538/hhx.2023.45.03.0259

Preparation and Preliminary Imaging Study of Molecular Probe [¹⁸F]FEO-CHC Targeting Monocarboxylic Acid Transporter

WANG Hong-liang, YANG Liu, ZHAO Qi-nan,
QIN Kai-xin, SHI Dong-mei, ZHENG Yu-zhou

Department of Nuclear Medicine, First Hospital of Shanxi Medical University,
Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: Using α -cyano-4-hydroxy-cinnamic acid, a small molecule inhibitor of monocarboxylic acid transporters(MCTs), as the lead compound, a novel ¹⁸F-labeled α -cyano-4-hydroxy-cinnamic acid probe was designed and synthesized. The preliminary evaluation of stability and tumor PET/CT imaging were performed in this study. Taking α -cyano-4-(2-p-toluene-sulfonyl-ethoxy)-methyl cinnamate as the precursor compound, the intermediate compound α -cyano-4-(2-[¹⁸F]-fluoroethoxy)-methyl cinnamate([¹⁸F]4) was obtained by nucleophilic reaction with ¹⁸F⁻, which was separated and purified by high performance liquid chromatog-

raphy(HPLC). α -cyano-4-(2-[^{18}F]-fluoroethoxy)-cinnamic acid([^{18}F]FetO-CHC, [^{18}F]5) can be obtained from the hydrolysis of [^{18}F]4 with 2 mol/L NaOH solution and the neutralization with 1 mol/L HCl solution. The results of cell proliferation inhibition assay show that compound [^{18}F]5 has better inhibitory activity than that of CHC. [^{18}F]FetO-CHC shows good stability and biosafety from the *in vitro* and *in vivo* studies, and micro-PET/CT imaging in DU145 prostate cancer tumor-bearing mice shows that [^{18}F]5 has obvious radioactive accumulation at the tumor site. [^{18}F]FetO-CHC has the advantages of simple synthesis process, good stability, high biological safety, and ability for tumor PET imaging. It is a potential PET agent for specific MCTs imaging.

Key words: monocarboxylic acid transporter; metabolism of symbiosis; α -cyano-4-hydroxycinnamic acid; PET imaging probe; radiochemical synthesis

随着对肿瘤分子生物学研究的进展,人类对恶性肿瘤各种生物学特性的认识逐渐深入。代谢重塑是恶性肿瘤的两大特征之一^[1]。Warburg^[2]首先观察到,即使是在氧气存在的条件下,肿瘤细胞主要通过线粒体氧化磷酸化(MOP)转换到氧糖酵解产生能量,这导致了糖酵解产物乳酸在肿瘤处积聚。肿瘤内乳酸的产生和堆积与肿瘤的侵袭、转移、血管生成和免疫逃逸等密切相关,且与肿瘤的预后不良有关^[3-7]。受血管分布的影响,距离肿瘤血管较远的乏氧区肿瘤细胞主要通过糖酵解利用葡萄糖、并产生大量的乳酸;产生的乳酸在单羧酸转运蛋白 4(monocarboxylate transporter 4, MCT4)的作用下排出肿瘤细胞外;而距肿瘤血管较近的富氧区肿瘤细胞则在 MCT1 作用下摄取胞外乳酸,并在乳酸脱氢酶 B 的作用下将其转化为丙酮酸,经氧化磷酸化进一步代谢。在单羧酸转运蛋白(MCTs)的作用下,肿瘤组织实现了对自身糖酵解代谢产生的乳酸的综合利用,这种代谢特征即为肿瘤的代谢共生^[8]。为使乳酸能够跨越质膜运输,肿瘤细胞的单羧酸转运体上调,尤其是 MCT1 和 MCT4,作为肿瘤细胞间代谢共生的关键,成为了肿瘤治疗的有效靶点。

从诊断角度来看,通过对单羧酸转运体进行活体显像,将能了解 MCTs 的功能和调控以及为肿瘤代谢共生及其干预实现肿瘤治疗的研究提供重要的分子影像技术。目前靶向 MCTs 的小分子抑制剂主要有 α -氰基-4-羟基肉桂酸(α -cyano-4-hydroxycinnamic acid, CHC)、AR-C155858、AZD3965^[9]、BAY-8002。其中 α -氰基-4-羟基肉桂酸对 MCT1 的抑制选择性要远高于其他 MCTs,并能有效增敏肿瘤细胞对放化疗的敏感性^[10]。另外,有报道^[11]指出:经对 CHC 苯环上羟基进行烷基醚化

或羟基被其他烷基基团取代等修饰后得到的衍生物大多具有对 MCTs 更好的细胞增殖抑制活性。目前只有两种 MCTs 抑制剂被开发为靶向 MCTs 的正电子发射型计算机断层显像(positron emission tomography, PET)探针:一种是 ^{11}C 标记的香豆素类似物,其较低的肿瘤堆积、较短的半衰期和复杂的制备工艺不适于进一步临床转化^[12];另一种是 ^{18}F 标记的 α -氰基-肉桂酸类似物([^{18}F]FACH),其在猪的应用研究显示其辐射吸收剂量约为 $12.4\ \mu\text{Sv}/\text{MBq}$ 、有较高的辐射安全性,但未见其在活体内肿瘤 PET 显像的研究报道^[13]。因此,本工作拟选择 α -氰基-4-羟基肉桂酸为先导化合物,通过在苯环上化学修饰引入含有 ^{18}F 的基团,获得 ^{18}F 标记的 CHC 类探针,并对其进行初步的肿瘤 PET 显像评价。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

HM-10 型回旋加速器,日本住友公司;6550 iFunnel Q-TOF LC/MS 液质联用仪,美国 Agilent Technologies 公司;Bruker Avance III 400 MHz 核磁共振波谱仪(NMR),德国 Bruker 公司;高效液相色谱系统(HPLC),天津 Lab Alliance 公司,配有 B-FC-3600 型高能放射性检测仪(美国 Bioscan 公司)和 201 型紫外检测仪(天津 Lab Alliance 公司)双检测器;CRC-25R 放射性活度计,美国 Capintec 公司;半制备型 C18 色谱柱($5\ \mu\text{m}$, $250\ \text{mm}\times 10\ \text{mm}$),日本 YMC 公司;Sep Pak QMA 小柱和 HLB 小柱,美国 Waters 公司;薄层色谱扫描仪(TLC),美国 Bioscan 公司,配有 B-FC-3600 型高能放射性检测仪;纸硅胶板、DC-Fertigfolien Polygram 硅胶板,德国 Macherey-Nagel;SpectraMax 酶标

仪,美谷分子公司。

4,7,13,16,21,24-六氧-二氮双环[8.8.8]二十六烷(Kryptofix 2.2.2, K222),德国 ABX 高级生化化合物有限公司;无水乙腈(CH_3CN)、二甲基甲酰胺(DMF)和无水碳酸钾(K_2CO_3),美国 Aldrich 公司;其余试剂均为国产分析纯或化学纯;实验用水为去离子纯化水。

1.2 实验动物及肿瘤细胞

美国癌症研究所(Institute of Cancer Research, ICR)小鼠和 BALB/c (巴比赛)裸鼠各 12 只,雄性,15~20 g,清洁级,山西医科大学实验动物中心提供。DU145 前列腺癌细胞,购于中国科学院上海细胞库。

1.3 前体化合物 3 及参比化合物 ^{19}F 5 的化学合成

^{18}F 标记的 CHC 类探针的前体化合物 3、中间体化合物 ^{19}F 4 和参比化合物 ^{19}F FEtO-CHC (^{19}F 5)的合成路线示于图 1。

α -氰基-4-羟基肉桂酸甲酯(methyl α -cyano-4-hydroxycinnamate, 化合物 2)的合成:在冰水浴下,在三口烧瓶中加入 50 mL 甲醇,并在搅拌下逐滴加入氯化亚砷(SOCl_2)(1.0 mL, 14.16 mmol),搅拌 30 min 后,向反应体系中分批逐滴加入 α -氰基-4-羟基肉桂酸(化合物 1, 2.0 g, 10.56 mmol)的甲醇溶液(20 mL),加入完成后撤去冰水浴,70 °C 加热回流反应 24 h。TLC 监测反应完成后,旋蒸除去反应溶剂,然后加入 50 mL 水,使用乙酸乙酯(50 mL $\times$ 4 次)萃取,合并有机相、并用无水 Na_2SO_4 干燥,浓缩后得 α -氰基-4-羟基肉桂酸甲酯(淡黄色粉末状固体,1.964 g),产率 91.43%,未纯化直接用于下一步反应。

α -氰基-4-(2-对甲苯磺酰氧乙氧基)-肉桂酸甲

酯(α -cyano-4-(2-p-toluenesulfonyl-ethoxy)-methyl cinnamate, 化合物 3)的合成:化合物 2(0.5 g, 2.46 mmol)溶解于含有 35 mL 乙腈的三口烧瓶中,加入无水 K_2CO_3 (1.36 g, 9.84 mmol)和 18-冠-6 醚(0.13 g, 0.492 mmol),充分搅拌 20 min 后再加入二对甲苯磺酸乙二醇酯($\text{TsOCH}_2\text{CH}_2\text{OTs}$, 1.37 g, 3.69 mmol),90 °C 加热回流反应 10 h,减压旋蒸除去反应溶剂。加入 50 mL 水,经乙酸乙酯(50 mL $\times$ 4 次)萃取,合并有机相并用无水 Na_2SO_4 干燥、浓缩。经柱层析纯化(V (乙酸乙酯): V (石油醚)=1:3)得化合物 3(黄色粉末状固体,0.69 g),产率 70.1%。

α -氰基-4-(2- ^{19}F -氟乙氧基)-肉桂酸甲酯(α -cyano-4-(2- ^{19}F -fluoroethoxy)-methyl cinnamate, 简称 ^{19}F 4)的合成:在无水 K_2CO_3 和 18-冠-6 醚共同催化下,化合物 2(0.5 g, 2.46 mmol)在 MeCN 溶剂中 与对甲苯磺酸氟乙酯($\text{FCH}_2\text{CH}_2\text{OTs}$, 0.81 g, 3.69 mmol)90 °C 下加热回流反应,反应 10 h 后减压旋蒸除去反应溶剂,加入 50 mL 水,经乙酸乙酯(50 mL $\times$ 4 次)萃取,合并有机相并用无水 Na_2SO_4 干燥、浓缩。经柱层析纯化(V (乙酸乙酯): V (石油醚)=1:3)得化合物 ^{19}F 4(白色粉末状固体,0.455 g),产率 74.3%。

参比化合物 α -氰基-4-(2- ^{19}F -氟乙氧基)-肉桂酸(α -cyano-4-(2- ^{19}F -fluoroethoxy)-cinnamic acid, ^{19}F FEtO-CHC, 简称 ^{19}F 5)的合成:将化合物 ^{19}F 4(0.3 g, 1.20 mmol)溶解在 4 mol/L NaOH 水溶液(10 mL)中,室温下搅拌 10 min,然后使用 2 mol/L HCl 溶液(20 mL)中和,最后用乙酸乙酯(30 mL $\times$ 4 次)萃取,合并有机相并用无水 Na_2SO_4 干燥,浓缩后得化合物 ^{19}F 5(白色粉末状固体,0.27 g),产率 94.2%。

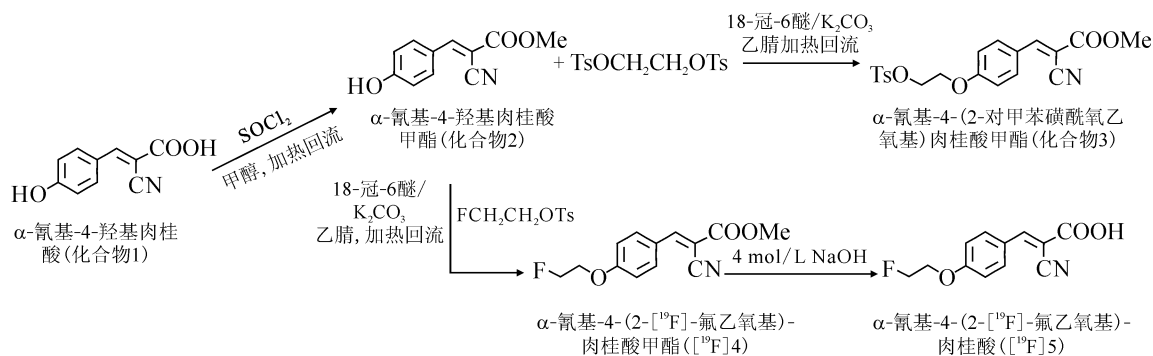


图 1 ^{18}F 标记的 CHC 类探针前体化合物及参比化合物的合成路线

Fig. 1 Synthetic route for precursor and standard compounds of ^{18}F -radiolabeled CHC probe

用 Feldkamp 滤波反投影算法。采用 PMOD 软件进行图像分析,勾画裸鼠肿瘤的感兴趣区域(volume of interest, VOI),定量计算最大标准化摄取值(maximum standard uptake value, SUV_{max})。

2 结果与讨论

2.1 ^[18F]FEtO-CHC 前体的化学合成

以 α-氰基-4-羟基肉桂酸(化合物 1)为原料,与甲醇经酯化反应得 α-氰基-4-羟基肉桂酸甲酯(化合物 2),收率为 91.43%。

使用 α-氰基-4-羟基肉桂酸甲酯(化合物 2)与二对甲苯磺酸乙二醇酯反应得前体化合物 α-氰基-4-(2-对甲苯磺酰氧乙氧基)-肉桂酸甲酯,其质谱理论相对分子质量为 401.101 1,实际测定相对分子质量为 $[M+1]^+ = 402.100 5$; ¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz):δ8.34(s, —CH=C—, 1H), 8.06~8.09(m, 3,5-ArH, 2H), 7.79~7.81(m, 2,6-ArH, 2H), 7.46~7.48(m, 3,5-ArH, 2H), 7.05~7.08(m, 2,6-ArH, 2H), 4.36~4.39(m, —CH₂—CH₂—O, 2H), 4.30~4.32(m, —CH₂—CH₂—O, 2H), 3.85(s, CH₃-Ar, 3H), 2.43(s, —OCH₃, 3H), 经质谱及 ¹H NMR 鉴定化合物 3 的分子结构正确。

使用 α-氰基-4-羟基肉桂酸甲酯(化合物 2)与对甲苯磺酸氟乙酯反应生成化合物 α-氰基-4-(2-

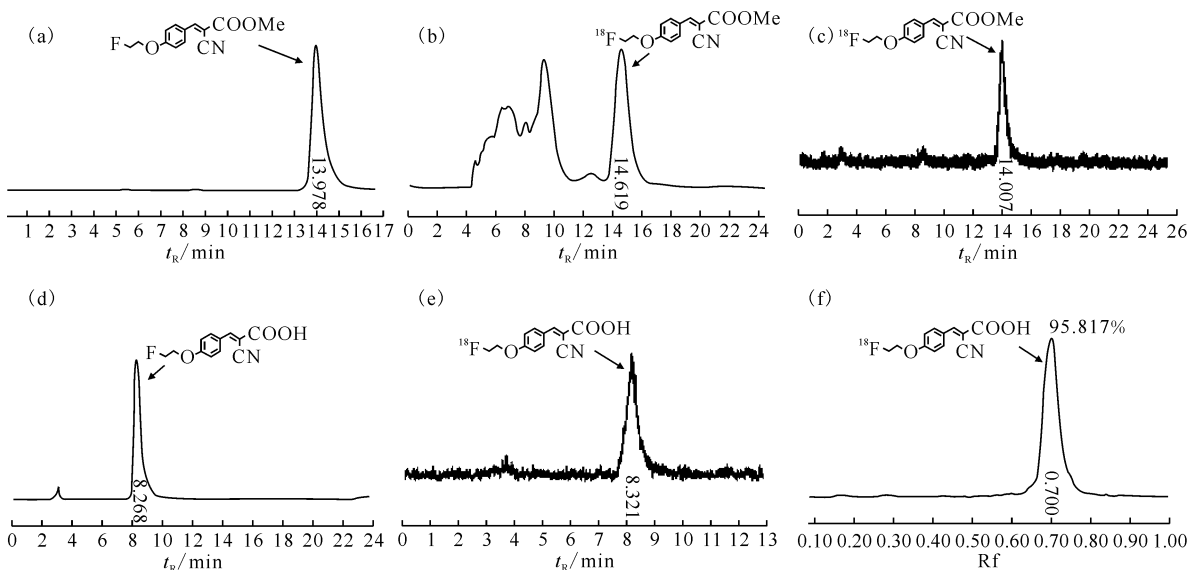
^[19F]-氟乙氧基)-肉桂酸甲酯(^[19F]4),化合物 ^[19F]4 的质谱理论相对分子质量为 249.069 9,实际测定相对分子质量为 $[M+Na]^+ = 272.066 3$; ¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz):δ8.35(s, —CH=C—, 1H), 8.10~8.13(m, 3,5-ArH, 2H), 7.19~7.23(m, 2,6-ArH, 2H), 4.84~4.86(m, F—CH₂—CH₂—O, 2H), 4.72~4.74(m, F—CH₂—CH₂—O, 2H), 3.85(s, —OCH₃, 3H), 经质谱及 ¹H NMR 鉴定 ^[19F]4 的分子结构正确。

2.2 细胞增殖抑制实验

根据细胞增殖抑制实验显示,与 DU145 细胞共孵育 72 h,CHC 的 IC₅₀ = 226.01 μmol/L(文献[11]报道其 IC₅₀ = 150 μmol/L),而化合物 ^[19F]5 的 IC₅₀ = 6.12 μmol/L。可见经过在对位羟基处引入氟乙基后,化合物 ^[19F]5 较 CHC 对细胞增殖的抑制活性提高了 36 倍。

2.3 ^[18F]5 的放射化学合成

^[18F]5 是以化合物 3 为前体化合物,经过与 ¹⁸F⁻ 的亲核取代和碱性水解两步反应得到。^[18F]5 为手动标记,放化合成时间约为 70 min,放化收率为 15.0% ± 1.6% (n = 7),放射性活度浓度约为 2.22 × 10¹¹ Bq/mmol。HPLC 测定中间体化合物 ^[19F]4 在紫外色谱图中的保留时间(t_R)为 13.978 min(图 3(a));收集 HPLC 纯化中保留时间为 14.619 min 的放射性馏分(图 3(b)),纯化



紫外 HPLC 图:(a)——^[19F]4,(d)——^[19F]5;

放射性 HPLC 图:(b)——反应液,(c)——中间体化合物 ^[18F]4,(e)——^[18F]5;(f)——^[18F]5 的放射性 TLC 图

图 3 中间体化合物 4 和产物 5 的质量控制

Fig. 3 Quality control of compounds 4 and 5

后分析测定收集到放射性馏分的保留时间为 14.007 min(图 3(c)),可以确认为目标中间体化合物 ^{18}F 4。 ^{19}F 5 在紫外色谱图中的保留时间为 8.268 min(图 3(d)),中间体化合物 ^{18}F 4 被 2 mol/L NaOH 溶液水解后,得到的放射性产物的保留时间为 8.321 min(图 3(e)),可以确认为目标产物 ^{18}F 5。

2.4 质量控制

产品 ^{18}F 5 注射液为无色透明溶液, pH = 7.0。放射性 ^{18}F F⁻ 在 radio-HPLC 中的保留时间是 4.000 min、在 radio-TLC 中 Rf = 0.1。经 radio-HPLC(图 3(e))和 radio-TLC 分析(图 3(f))均显示, ^{18}F 5 注射液的放射化学纯度大于 95%,满足进一步的实验要求。

2.5 稳定性和异常毒性检测

体外稳定性: ^{18}F 5 注射液在不同 pH 值缓冲溶液和胎牛血清中室温下保存 120 min,测定其放化纯度均在 95% 以上;体内稳定性: ^{18}F 5 (0.2 mL, 4 MBq)经尾静脉注入健康 BALB/c 小鼠体内 30 min 后,收集小鼠尿液,HPLC 法测定显示尿液中放射性仍以 ^{18}F 5 为主,且放化纯度

占到 80% 以上。因此,可以看出 ^{18}F 5 具有较好的体外稳定性,而在体内有发生进一步的分解代谢。

产品异常毒性:小鼠尾静脉注入经过 6 个半衰期后的 ^{18}F 5 注射液,在 24、48、72 h 及一周时动物的一般状况良好,在各个时间点小鼠未出现不良反应和死亡现象。小鼠处死解剖后观察,未见明显脏器损伤。

2.6 Micro-PET/CT 显像

^{18}F 5 在 DU145 荷瘤小鼠的 Micro-PET/CT 显像结果示于图 4。由图 4 可知:注射 ^{18}F 5 30 min 后小鼠肾脏、肠道等组织器官可见明显的放射性浓聚;注射 60 min 后可见一定程度上的骨显影,并且肾脏、肠道处生理性的摄取进一步增高,膀胱内可见显像剂的排泄影,其余脑、心、肺、肝、肌肉等脏器组织的放射性摄取较低,接近本底水平。DU145 前列腺癌荷瘤小鼠的肿瘤部位对 ^{18}F 5 的放射性摄取相对较低,在注射显像剂 30 min 后即可见肿瘤部位的摄取,摄取程度高于对侧皮下组织,但与邻近心肌摄取程度相近;在 60 min 时肿瘤处 SUV_{max} 达到峰值,此时 SUV_{max}=

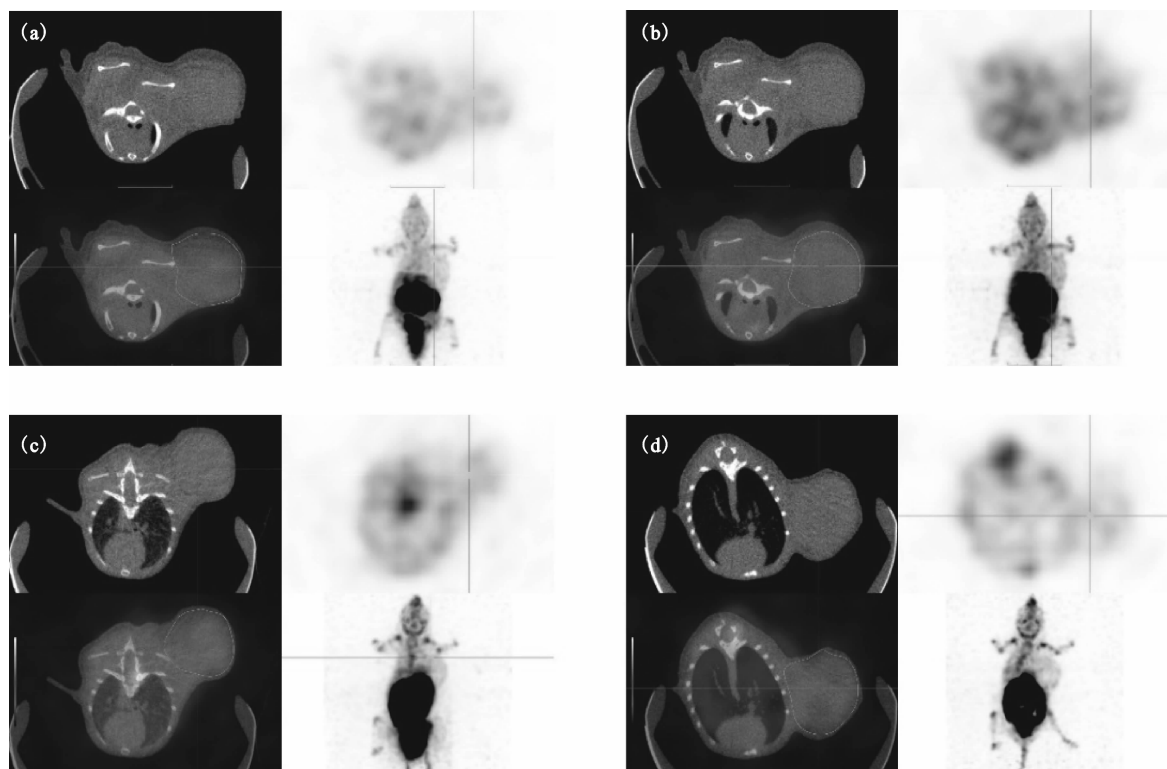


图 4 在注射 ^{18}F 5 30(a)、60(b)、90(c)、120 min(d)时肿瘤小鼠的 Micro-PET/CT 图像

Fig. 4 Micro-PET/CT images of tumor-bearing mice

at 30(a), 60(b), 90(c), and 120 min(d) post injection of ^{18}F 5

0.90 ± 0.04 , 随着时间延长, 在 90 min 和 120 min 后肿瘤部位放射性摄取逐渐减低。在整个显像过程中小鼠的肾脏以及肠道一直保持较高的放射性浓聚。

2.7 讨论

单羧酸转运蛋白是哺乳动物细胞膜上广泛分布的一类跨膜转运蛋白, 其主要是通过参与调控乳酸、丙酮酸、丁酸等一元羧酸类物质的跨膜转运, 并以 1:1 的比例转运 H^+ 和一元羧酸阴离子来发挥其生物学功能, 这对于正常细胞和肿瘤细胞的糖酵解代谢、尤其是乳酸代谢非常重要。MCTs 在大多数肿瘤细胞的细胞膜上呈异常高表达, 并与多种恶性肿瘤的不良预后有关^[14], 而且这种异常高表达赋予了肿瘤细胞高糖酵解速率和酸抵抗表型(肿瘤细胞存活并发挥恶性潜能的必要条件)。MCTs 正是能够将 Warburg 效应和酸抵抗表型联系在一起的关键蛋白; MCTs 通过介导乳酸等的跨膜转运来保持肿瘤微环境处于弱酸化状态, MCTs 一方面将细胞糖酵解代谢产生的乳酸排出胞外, 从而使 Warburg 效应顺利进行, 另一方面将细胞外的乳酸摄入富氧区细胞胞内以补充氧化磷酸化的底物。因此, 实现无创性 MCTs PET 显像及量化分析, 将为肿瘤 MCT1 靶向治疗可行性评估及疗效监测评价提供有效的影像技术和方法。

本研究以 α -氰基-肉桂酸为先导化合物, 通过在苯环 4 位羟基处引入氟乙基得到新的 CHC 衍生物 $[^{19}\text{F}]\text{FET-O-CHC}$ ($[^{19}\text{F}]\text{5}$)。本研究测定 CHC 的 IC_{50} 值与文献^[11]值比较接近, 存在差异性的原因可能是所用显色试剂不同造成的。可以确定经过对 CHC 的苯环羟基处进行修饰后, 得到的 $[^{19}\text{F}]\text{5}$ 具有更好的细胞抑制活性。另外, 采用了与 ^{18}F 标记的酪氨酸衍生物 ($[^{18}\text{F}]\text{-FET}$) 前体化合物制备的类似方法^[14], 通过醚化反应在苯环羟基上引入可实现 ^{18}F 标记的烷基基团得到前体化合物 3。 $[^{18}\text{F}]\text{FET-O-CHC}$ 的制备采取了与制备 2- $[^{18}\text{F}]\text{-氟丙酸}$ ($[^{18}\text{F}]\text{-FPA}$) 相似的方法^[15], 经过与 $^{18}\text{F}^-$ 亲核取代和碱性水解两步反应得到 $[^{18}\text{F}]\text{FET-O-CHC}$ ($[^{18}\text{F}]\text{5}$)。本研究采用手动方法完成了 $[^{18}\text{F}]\text{5}$ 放化合成, 但根据其制备工艺, 在市售的多个 ^{18}F 多功能合成仪上均能实现其自动合成。 $[^{18}\text{F}]\text{5}$ 与 $[^{18}\text{F}]\text{FACH}$ 相似, 在分子结构中均保留了与 MCTs 作用的 α -氰基-肉桂酸 (α -cyano-cinnamic acid, CCA) 的有效功能结构, 而

$[^{18}\text{F}]\text{FACH}$ 可通过以羧基未酯化保护的化合物为前体化合物经直接与 $^{18}\text{F}^-$ 亲核取代的一步反应实现制备, 且放射化学收率达到 30% 以上^[16]。因此 $[^{18}\text{F}]\text{5}$ 也可以通过以新的前体化合物经一步反应制备, 以提高产物的放射化学合成效率。

初步的稳定性研究显示, $[^{18}\text{F}]\text{5}$ 在不同 pH 的溶液环境中均显示了较好的稳定性, 所制备的 $[^{18}\text{F}]\text{5}$ 注射液注射小鼠体内后未见明显的不良反应和组织毒性, 具有较好的生物安全性。但 $[^{18}\text{F}]\text{5}$ 在小鼠体内 30 min 后可能会发生一定程度上的分解。小鼠荷瘤模型的 Micro-PET/CT 结果显示, $[^{18}\text{F}]\text{5}$ 经尾静脉注射至小鼠体内后, 很快广泛分布和清除。注射 30 min 后, 脑、心、肺、肌肉等组织或脏器均具有较低的放射性摄取, 这有利于形成具有较低本底的图像。放射性摄取主要集中在肝脏、肾脏和肠道, 这与 $[^{18}\text{F}]\text{FACH}$ 在小鼠体内的分布特征一致^[17]。大量放射性摄取在肠道处浓聚的原因可能是: 肠道是各种短链脂肪酸被重新吸收利用的主要场所, 具有各种 MCTs 高表达的生理特征。肾脏和膀胱尿液的放射性显影清晰, 说明 $[^{18}\text{F}]\text{5}$ 是经过肾脏进入泌尿系统排出体外; 而且在注射 60 min 后能够看到明显的骨显影, 这可能与其在体内发生了一定程度的脱氟有关。而 $[^{18}\text{F}]\text{FACH}$ 在小鼠体内骨摄取在 30 min 内未发生明显的骨摄取增加, 应该为生理性摄取^[17]; 而其在猪的 PET 显像中能够看到明显的脊柱骨显影, 应该是有一定的脱氟情况。另外, 在肿瘤处能够看到明显的放射性浓聚显影^[13]。肿瘤小鼠的 Micro-PET 显像结果显示: $[^{18}\text{F}]\text{5}$ 对肿瘤具有明显的放射性浓聚, SUVmax 在 60 min 时具有最高值; 而 SUVmax 值相对较低可能与肿瘤过大有一定的关系。与 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 的有效剂量 ($20 \mu\text{Sv}/\text{MBq}$) 相比, $[^{18}\text{F}]\text{FACH}$ 具有较高的辐射安全性 ($12.4 \mu\text{Sv}/\text{MBq}$)。为了进一步明确 $[^{18}\text{F}]\text{5}$ 的应用安全性和 MCTs 对肿瘤 MCT PET 显像的特异性, 将通过动物活体实验进行计量学研究, 以及通过细胞摄取实验来验证其与 MCTs 的靶向性, 及对 $[^{18}\text{F}]\text{5}$ 在肿瘤组织中的摄取性与肿瘤组织含氧量和 MCTs 表达的相关性进行研究。

3 结论

^{18}F 标记 CHC 衍生物 $[^{18}\text{F}]\text{FET-O-CHC}$ ($[^{18}\text{F}]\text{5}$) 是一种自行设计的靶向 MCTs 的 PET 分子探针,

且 $[^{18}\text{F}]\text{FET-O-CHC}$ 较 CHC 具有更好的细胞增殖抑制活性。以 α -氰基-4-(2-对甲苯磺酰氧乙氧基)-肉桂酸甲酯为前体,经过与 $^{18}\text{F}^-$ 的亲核取代和碱性水解两步反应得到产物 $[^{18}\text{F}]\text{FET-O-CHC}$ ($[^{18}\text{F}]\text{5}$),合成时间约为70 min,未校正的标记率为 $15.0\% \pm 1.6\%$ ($n=7$),放化纯度大于95%。此合成方法过程简单高效、操作容易,是合成 $[^{18}\text{F}]\text{FET-O-CHC}$ 的一条有效途径。此外, $[^{18}\text{F}]\text{FET-O-CHC}$ 具有较好的体外稳定性,且对肿瘤具有一定的PET显像能力,未来将进一步研究 $[^{18}\text{F}]\text{FET-O-CHC}$ 对MCTs的靶向性,以及肿瘤组织对其摄取与乏氧的关系,为基于乳酸利用的肿瘤代谢共生以及实施肿瘤代谢共生干预治疗评估提供重要分子影像手段。

参考文献:

[1] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. Cell, 2011, 144: 646-674.

[2] Warburg O. On respiratory impairment in cancer cells[J]. Science, 1956, 124(3215): 269-270.

[3] Goetze K, Walents S, Ksiazkiewicz M, et al. Lactate enhances motility of tumor cells and inhibits monocyte migration and cytokine release[J]. Int J Oncol, 2011, 39(2): 453-463.

[4] Singer K, Gottfried E, Kreutz M, et al. Suppression of T-cell responses by tumor metabolites[J]. Cancer Immunol Immun, 2011, 60(3): 425-431.

[5] Porporato P E, Payen V L, Saedeleer C, et al. Lactate stimulates angiogenesis and accelerates the healing of superficial and ischemic wounds in mice[J]. Angiogenesis, 2012, 15(4): 581-592.

[6] Polet F, Feron O. Endothelial cell metabolism and tumour angiogenesis: glucose and glutamine as essential fuels and lactate as the driving force[J]. J Intern Med, 2013, 273(2): 156-165.

[7] Yokota H, Guo J, Matoba M, et al. Lactate, choline, and creatine levels measured by *vitro* ^1H -MRS as prognostic parameters in patients with non-small-cell lung cancer[J]. J Magn Reson Imaging, 2010, 25(5): 992-999.

[8] Sonveaux P, Végran F, Schroeder T, et al. Targeting lactate-fueled respiration selectively kills hypoxic tumor cells in mice[J]. J Clin Invest, 2008, 118(12): 3930-3942.

[9] Afonso J. *In vivo* anticancer activity of AZD3965: a systematic review[J]. Molecules, 2021, 27(1): 181.

[10] Halestrap A P. Monocarboxylic acid transport[J]. Compr Physiol, 2013, 3: 1611-1643.

[11] Connell R J. Novel alpha cyanocinnamate derivatives as monocarboxylate transporter-1 inhibitors[D]. Dissertations & Theses, Department of Chemistry and Biochemistry of University of Minnesota, Duluth, USA, 2011.

[12] Tateishi H, Tsuji A B, Kato K, et al. Synthesis and evaluation of ^{11}C -labeled coumarin analog as an imaging probe for detecting monocarboxylate transporters expression[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2017, 27: 4893-4897.

[13] Sattler B, Kranz M, Wenzel B, et al. Preclinical incorporation dosimetry of $[^{18}\text{F}]\text{FACH}$: a novel ^{18}F -labeled MCT1/MCT4 lactate transporter inhibitor for imaging cancer metabolism with PET[J]. Molecules, 2020, 25(9): 2024.

[14] 刘春燕,姜申德. 正电子发射显像剂 O-(2- $[^{18}\text{F}]\text{氟乙基}$)-L 酪氨酸的新型前体的合成[J]. 应用化学, 2011,28(8):892-896.

[15] Pillarsetty N V, Punzalan B, Larson S M. 2- ^{18}F -fluoropropionic acid as a PET imaging agent for prostate cancer[J]. J Nucl Med, 2009, 50(10): 1709-1714.

[16] Sadeghzadeh M, Moldovan R P, Teodoro R, et al. One-step radiosynthesis of the MCTs imaging agent $[^{18}\text{F}]\text{FACH}$ by aliphatic ^{18}F -labelling of a methyl-sulfonate precursor containing an unprotected carboxylic acid group[J]. Sci Rep, 2019, 9: 18890.

[17] Gündel D, Sadeghzadeh M, Deuther-Conrad W, et al. Preclinical evaluation of $[^{18}\text{F}]\text{FACH}$ in healthy mice and piglets: an ^{18}F -labeled ligand for imaging of monocarboxylate transporters with PET[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4): 1645.