

铟标记长链脂肪酸衍生物(BAT-FA)的初步研究

国毓智

(江苏省原子医学研究所, 无锡)

孔繁渊 R. H. Mack

(纽约州立大学布法罗分校医学院核医学系)

放射性药物研究中, 用 ^{123}I 标记长链脂肪酸及其衍生物已有很多报道。本文报道了三种铟标记的长链脂肪酸衍生物: Tc-BAT-TDA , Tc-BAT-PDA 和 Tc-BAT-HxDA 。三者的 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记物均可用配体交换反应制备, 产额分别为87%, 70%和49%。产物经萃取纯化, 放化纯高于98%。以 ^{99}Tc 为载体, 制备了 ^{99}Tc 标记物, 红外、紫外光谱的 Tc=O 特征峰与已知 $^{99}\text{Tc-BAT}$ 络合物的光谱数据相符。动物实验数据表明: $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记的上述长链脂肪酸衍生物在心脏中的浓集程度较碘代苯基十五酸(IPPDA)低。静脉给药后5min, 在大鼠心肌中分别为0.20%, 0.32%和0.46%剂量/组织。药物大部分浓集于肝脏。所提出的三种 Tc-BAT-FA 尚不能满足做为心肌显像剂的要求, 需要通过改善配体的结构等途径来获得更好的结果。

关键词 心肌显像剂, $^{99\text{m}}\text{Tc}$, 标记长链脂肪酸, 衍生物。

一、引言

自由脂肪酸是心肌的重要能源, 近十年来 ^{11}C , ^{123}I 等核素标记的长链脂肪酸及其衍生物已经成功的应用于临床正电子断层显像(DET)或单光子断层显像(SPECT)^[1-3]。但是, 由于 ^{11}C , ^{123}I 等加速器生产的同位素价格昂贵, 供应不便, 因而很难广泛使用。 ^{99}Tc 的核衰变性质极适用于SPECT且有方便的来源, 因而研究用 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记的长链脂肪酸做为心肌显像剂以及用以研究心肌的代谢功能, 是一项很有意义的课题。具有二硫二氮结构的BAT (bisaminoethanethiol) 是一个很好的铟的配基。孔繁渊等^[4]曾研究了大量的BAT-Tc络合物。通常BAT与五价的铟(Tc=O)形成稳定的, 中性、脂溶性络合物。R. H. Mack将BAT基团与长链脂肪酸联接, 成功地合成了一系列的BAT-长链脂肪酸衍生物(BAT-FA), 以实现用铟标记长链脂肪酸。本文报道了三种BAT-FA的 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 和 ^{99}Tc 标记物的研究结果。

二、材料及方法

三种长链脂肪酸衍生物: BAT-TDA, [双(2-甲基-2-巯基丙基)-15, 16-二氨基十六酸]; BAT-PDA, [双(2-甲基-2-巯基丙基)-16, 17-二氨基十七酸]; BAT-HxDA, [双

1987年11月3日收到。

(2-甲基-2-巯基丙基)-17, 18-二氨基十八酸]系由 R.H.Mack等^[5]合成。

图1给出三种 BAT-FA 化合物的结构。图2给出与钨形成的络合物的结构及 ω 碘代苯基十五酸的结构。其他试剂系由 Aldrich 化学试剂公司购得, 未经进一步处理, 直接使用。

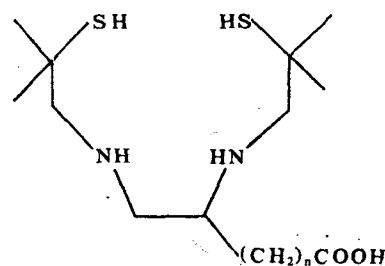


图1 三种BAT-FA的结构
BAT-TDA, $n=13$; BAT-PDA, $n=14$;
BAT-HxDA, $n=15$ 。

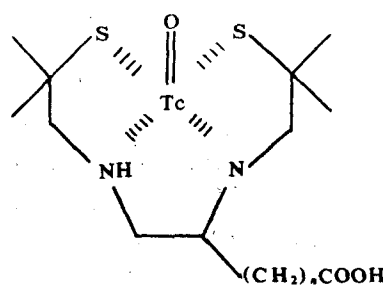
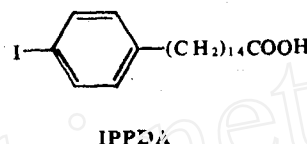


图2 钨标记BAT-FA及IPPDA结构

^{99m}Tc -BAT-TDA, $n=13$; ^{99m}Tc -BAT-PDA, $n=14$; ^{99m}Tc -BAT-HxDA, $n=15$ 。



(1) ^{99m}Tc -BAT-FA的标记 葡庚酸盐-氯化亚锡冻干药箱一只(内含葡庚酸盐20mg, 氯化亚锡1mg, 自制), 用2ml蒸馏水溶解, 取0.2ml, 与0.1ml ^{99m}Tc 淋洗液($\sim 5\text{mCi}$)混合于10ml试管中, 再加入1ml BAT-FA的纯乙醇溶液(0.5mg/ml)。如果反应混合物出现混浊, 再加入适量的乙醇以保持反应体系澄清。反应混合物在 100°C 下加热30min, 冷却至室温。标记物在 $\text{pH}=3.0$ 的条件下用氯仿萃取(1ml $\times 3$), 然后将有机相全部通过一根填充有无水硫酸钠的短柱, 用空气吹干并溶解于适量的乙醇中。

(2) ^{99}Tc -BAT-FA的制备 在20ml乙醇和 $\text{pH}=6.0$ 的柠檬酸钠缓冲溶液(1:1)的混合液中, 加入预先制备好的高钨(^{99}Tc)酸铵水溶液(5mg/ml)0.1ml和1ml BAT-FA乙醇溶液(2mg/ml)在 $70^\circ\text{C}\sim 80^\circ\text{C}$ 下搅拌并小心地滴加新配制的氯化亚锡/盐酸溶液(20mg/ml, 0.1mol/l HCl), 继续加热并搅拌30min, 冷却至室温。产物用氯仿在 $\text{pH}=3.0$ 条件下萃取, 然后用SPICE C-18样品制备柱纯化, 先用3ml 100%乙腈淋洗以除去杂质, 再用3ml 85%乙腈/二甲基戊二酸(0.01mol/l, $\text{pH}=7.0$)混合液将产物洗脱, 产品的放化纯用高效液相色谱(HPLC)鉴定。

(3) ^{125}I - ω -(p-碘代苯基)十五酸(^{125}I -IPPDA)制备 ^{125}I -IPPDA是用于SPECT的心肌显像药物, 本实验中使用 ^{125}I -IPPDA做为生物分布研究的内标准。 ^{125}I -IPPDA的制备是以IPPDA为原料, 用固相同位素交换反应实现, 在2ml的安瓿中, 将1mg的IPPDA溶于少量乙醇, 与 ^{125}I (NaI)溶液10 μl ($\sim 5\text{mCi}$)和1~2mg的硫酸铵混合, 先将其加热烤干, 密封, 然后在油浴中加热($\sim 170^\circ\text{C}$)反应2小时, 冷却至室温后产物用氯仿萃取, 放化纯用HPLC鉴定。

(4) 高效液相色谱(HPLC) 钨标记的BAT-FA和 ^{125}I -IPPDA的放化纯使用HPLC鉴定。产物用氯仿萃取后, 空气吹干, 溶于适量无水乙醇中, 样品流经一根PRP-1型反相柱

(4.1mm×250mm),淋洗液为乙腈和3,3-二甲基戊二酸(pH=3.0, 0.01mol/l)的混合溶液(85:15),流速为1ml/min,使用UV254和γ射线检测器分别检测载体和标记物。

(5) **大鼠体内分布试验** 用 ^{125}I -IPPDA为内标准进行大鼠的双核素体内脏器分布试验。将适量的 ^{125}I -IPPDA和 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-FA溶于少量酒精,然后小心的滴入6%的牛血清蛋白溶液中,充分搅拌,并在40°C下温育30min,冷却至室温后即可使用。该制剂中酒精含量不超过10%,大鼠雄性(Sprague-Dewley)每组三只,用乙醚麻醉,腿静脉注药,给药后5,15min处死,脏器称重,放射性活度用双道Beckman自动γ计数器测量。

三. 结 果

(1) **BAT-FA的标记** 表1列出了 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记三种BAT-FA的产额、产物纯度和HPLC的保留时间。为了研究钼标记BAT-FA的理化性质,用 ^{99}Tc 为载体,制备了 ^{99}Tc -BAT-PDA。它是一种棕褐色油状物,其紫外可见光谱420nm处有一Tc=O特征峰,红外光谱900 cm^{-1} 处有一强的Tc=O峰(图3),这二个特征峰值与我们研究的其他 ^{99}Tc -BAT络合物的Tc=O特征峰值完全相同^[6]。元素分析结果: ^{99}Tc -BAT-PDA的C,H,N理论值(%)为51.0,8.39和4.76,实测值(%)为:51.5,8.50和4.41。在HPLC图谱上, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-PDA和 ^{99}Tc -BAT-PDA分别用γ射线检测器和UV-254检测器检测,二者的保留时间完全相同(图4)。

表1 三种 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-FA的产额、纯度和HPLC保留时间

标 记 物	产额, %	纯度, %	HPLC保留时间, min
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-TDA	87	99	5.6
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-PDA	70	98	6.6
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-HxDA	49	99	7.6

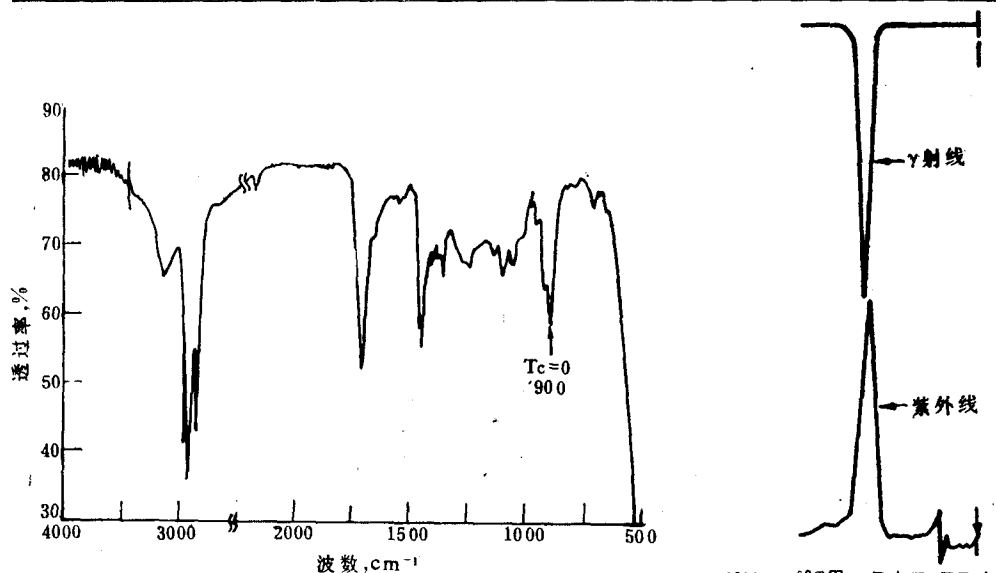


图3 ^{99}Tc -BAT-PDA的红外光谱



图4: ^{99}Tc 和 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-PDA的HPLC图
HPLC条件: PRP-1反相柱(4.1mm×250mm);
流速: 1.0ml/min; 流动相: 乙腈/3,3-二甲基戊二酸
(0.01mol/l, pH=3.0)为85/15,

(2) 大鼠脏器分布 表2列出了以 ^{125}I -IPPDA 为内标准的大鼠脏器分布实验结果。该结果表明, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-FA 在心肌的吸收率远较 ^{125}I -IPPDA低, 大部分示踪物浓集在肝脏。表中所列心/血比值系按%剂量/克脏器计算, 平均脏器重量为心脏0.8g, 血18g, 肝9g。

表2 大鼠脏器分布试验结果 (%剂量/克脏器) *

脏 器	注 药 后 时 间, min			
	5		15	
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-TDA		^{125}I -IPPDA	
心脏	0.20	0.09	2.01	1.02
血	5.76	2.99	16.9	14.2
肝	67.3	52.1	20.6	14.8
心/血	0.69	0.61	2.38	1.45
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-PDA		^{125}I -IPPDA	
心脏	0.32	0.13	2.32	1.22
血	4.71	2.48	14.6	13.8
肝	58.0	46.5	20.0	20.9
心/血	1.39	0.98	3.32	1.70
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-HzDA		^{125}I -IPPDA	
心脏	0.46	0.16	1.95	1.04
血	8.82	5.30	15.1	16.8
肝	61.0	50.1	20.9	17.1
心/血	0.98	0.59	2.44	1.24

* 3只大鼠平均值。

四、讨 论

放射性碘标记的长链脂肪酸已经成功地用于心肌显像和心肌代谢功能的研究。研究表明, 碘标记的位置从末端(ω)位最好。而后发展的用 ω 位对碘苯基取代的脂肪酸衍生物, 其药物性能更为理想, 心肌的吸收率较高, 心肌中滞留时间较长。为了实现用钨标记长链脂肪酸, 设想在长链脂肪酸的末端用一个钨的螯合基团取代, 而该基团能够与钨形成中性的络合物。这样得到的长链脂肪酸衍生物才有可能用来测定心肌内的脂肪酸代谢。BAT是能满足上述条件的螯合基, 通常BAT与五价钨($\text{Tc}=\text{O}$)形成中性、脂溶性的络合物。本文结果证明了通过BAT基团可以实现长链脂肪酸的钨标记。钨标记BAT-FA方法简单, 产物易于纯化, 纯度高, 稳定性好。从 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-PDA的光谱分析结果, $\text{Tc}=\text{O}$ 特征峰与研究过的其他Tc-BAT络合物结果相同。这提示我们钨与BAT配基在BAT-FA中同样形成了中性的络合物, 因而应具有图2所示的结构。

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BAT-FA的大鼠脏器分布实验结果表明, 示踪物在心肌中浓集较差, 大部分被肝脏吸收。因而, 这三种BAT-FA尚不能满足做为心肌显像剂的要求。从实验中也发现了一些有意义的现象, 例如, 从注药5min后心脏的吸收值可以看出, 随碳链的增长, 心肌吸收率也随之增加, 并且在HPLC上的保留时间也增加(即脂溶性增加)。因此, 增加脂肪链

的长度可能会使其药物性质得到一定改善。但从总体上看,用BAT做为长链脂肪酸末端取代基对脂肪酸的性质带来较大的影响。与IPPDA相比,心肌中吸收率降低很多,HPLC的保留时间也相差很大(意味着脂溶性相差很大)。因此选用更为合适的锡螯合基,或者适当的改善BAT基团的结构,以增加它的脂溶性以及适当改变脂肪链的结构对获得具有更好药物性能的结构是十分重要的。

参考文献

- [1] Schelbert, H.R., *Circulation*, 72(S IV), 122(1985).
- [2] Henze, E. et al., *J.Nucl.Med.*, 24, 987(1983).
- [3] Knapp, F.F. et al., *J.Nucl.Med.*, 27, 521(1986).
- [4] Kung, H.F. et al., *J.Med.Chem.*, 28, 1280(1985).
- [5] Mack, R.H. et al., Sixth International Symposium on Radiopharmaceutical Chemistry, pp.110-112, July 1986, Boston.
- [6] Kung, H.F., Guo, Y.Z. et al., *J.Nucl.Med.*, 27, 1051(1986)(abs.).

PRELIMINARY STUDIES OF ^{99m}Tc LABELED FATTY ACID ANALOGS FOR MYOCARDIAL IMAGING

GUO YUZHONG

(*Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Wuxi*)

HANK F. KUNG R.H.MACK

(*Department of Nuclear Medicine, SUNY, Buffalo, U.S.A.*)

ABSTRACT

Radio iodine labelled fatty acid analogs are potential myocardial imaging agents for SPECT. In this paper are reported three new ^{99m}Tc labelled fatty acid analogs: ^{99m}Tc -BAT-TDA, ^{99m}Tc -BAT-PDA and ^{99m}Tc -BAT-H₂DA. Ligand exchange reaction with ^{99m}Tc stannous glucoheptonate in 50% aqueous ethanol is used for labelling. With a yield of 87%, 70%, 49% respectively. ^{99m}Tc -fatty acid is purified by extraction into chloroform and the purity as determined by reverse phase HPLC is 98%. In order to determine the structure of Tc-BAT-fatty acid, ^{99}Tc -BAT-PDA is synthesized with ^{99}Tc ammonium pertechnetate in 50% citric acid buffer (pH=6) /ethanol using stannous chloride as the reducing agent. ^{99}Tc -BAT-PDA displays the expected Tc=O UV absorption at 420nm and strong peak at 900cm^{-1} in the FTIR spectrum.

Biodistribution studies of three ^{99m}Tc -fatty acid analogs are conducted in rats using ^{125}I - ω -(p-iodophenyl)-penta-decanoic acid (IPPDA) as internal standard. The initial heart uptake of them is significantly lower than that of ^{125}I -IPPDA.

Key words Myocardial imaging, ^{99m}Tc , Labelled fatty acid, Analog.