

$^{99}\text{Tc}^m$ -吡哆醛氨基酸类肝胆显像剂 结构与生物体内分布行为的关系

张华明 罗顺忠* 刘中林* 赵鹏骥*

(中国工程物理研究院久远辐射技术总公司,成都 610003)

(* 中国工程物理研究院核物理与化学研究所,成都 610003)

采用3种分子结构不同的吡哆醛氨基酸(PA)即吡哆醛色氨酸(PHT)、吡哆醛胱氨酸(PHC)和吡哆醛酪氨酸(PHY)进行 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记, pH=7时标记率 $\geq 95\%$ 。进行了3种 $^{99}\text{Tc}^m$ -PA在小白鼠体内生物分布的实验研究,并测定了3种 $^{99}\text{Tc}^m$ -PA在正辛醇与水相间的分配系数,结果表明:配体的分配系数愈高,亲脂性愈大,小鼠体内的血液清除愈快,肝胆浓集量愈高,这为寻找理想的肝胆显像药物提供了一定的理论依据。

关键词 $^{99}\text{Tc}^m$ -吡哆醛氨基酸($^{99}\text{Tc}^m$ -PA) 肝胆显像剂 结构 生物体内分布 关系

肝胆疾病是危及人类健康的主要疾患,利用肝胆显像剂对肝胆肿瘤进行准确、快速和早期诊断是挽救患者生命的有效方法之一。肝胆显像剂由 ^{198}Au 胶体、 ^{131}I -玫瑰红向低毒性、肝胆浓集量高、病患部位显像准确的 $^{99}\text{Tc}^m$ -螯合物发展。 $^{99}\text{Tc}^m$ -螯合物分为两类,一类为 $^{99}\text{Tc}^m$ -亚胺二乙酸($^{99}\text{Tc}^m$ -HIDA),另一类为 $^{99}\text{Tc}^m$ -吡哆醛氨基酸($^{99}\text{Tc}^m$ -PA)。Eckelman等^[1]研究了不同结构 $^{99}\text{Tc}^m$ -HIDA与生物体内分布的关系,发现 $^{99}\text{Tc}^m$ -二异丙基-IDA肝胆显像效果最好。Azuma等^[2,3]研究了 $^{99}\text{Tc}^m$ -(Sm)-吡哆醛苯丙氨酸苯环上不同位置用不同基团取代后小鼠体内生物分布与配体亲脂性的关系,得出苯环的邻位取代增加肝胆转移速度,对位取代增加了分子的刚性,提高了肝胆浓集量并降低了肾排泄。本文拟采用天然氨基酸与吡哆醛的缩合物研究PA结构变化对其生物体内分布的影响,尤其是对肝胆浓集量的影响,从而为寻找理想的肝胆药物提供理论依据。

1 实验材料

1.1 主要试剂

吡哆醛色氨酸(PHT)、吡哆醛胱氨酸(PHC)和吡哆醛酪氨酸(PHY):自制,产品经多次重结晶,化学纯度 $> 95\%$ 。D-葡萄糖酸钠:AR,上海试剂二厂生产。 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaOH, 磷酸二氢钠皆为AR。

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http

1.2 实验仪器

FH-408 定标器(西安 262 厂); NaI 400 道 γ 谱仪(西安 262 厂); ^{99}Mo - $^{99}\text{Tc}^m$ 发生器(本所产品); 自制带磨口 20 mL 反应试管, 可抽气可充 N_2 。

2 实验方法

2.1 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记

在试管中加入葡萄糖酸钠 9 mg, 含 PHT 20 mg 的水溶液 5 mL, 通 N_2 , 加入 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 mg 和 1 mL $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4^-$ 生理盐水淋洗液(3.7×10^7 Bq), 用 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 调 pH 至合适值, 通 N_2 赶尽 O_2 ; 然后将反应试管置于沸水中保持 15 min。产物用纸质层法分析放化纯度, 展开剂为 $V(\text{丙酮}) : V(\text{甲醇}) : V(1 \text{ mol/L KCl}) = 5 : 5 : 1$ 。PHC、PHY 的 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记与 PHT 相同, 但加入的 PHC 和 PHY 量分别为 30 mg 和 18 mg。

2.2 有机相与水相间分配系数的测定

测定方法参见文献[3, 4]。分配系数的值为正辛醇相放射性计数与水相放射性计数之比。水相为 NaH_2PO_3 -NaOH 缓冲溶液, pH = 7。

2.3 $^{99}\text{Tc}^m$ -PA 的动物体内分布

取雄性昆明小白鼠每 5 只 1 组, 经尾静脉注入 1 mL (3.7×10^6 Bq)、标记率大于 95% 的 $^{99}\text{Tc}^m$ -PA, 在注入后 5、15、30、60、120 min 各处死 1 组, 取出 1.0 mL 血及心、肝、肠和肾等器官, 称重, 测量各器官的放射性计数, 计算组织吸收剂量占总注入剂量的百分比(ID%)。

3 结果

3.1 标记体系 pH 对 $^{99}\text{Tc}^m$ -PA 标记率的影响

影响 $^{99}\text{Tc}^m$ -PA 标记率的主要因素有标记体系 pH 值、配体加入量以及 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 量。 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 必须现配现用并要求其浓度被准确标定出。影响 $^{99}\text{Tc}^m$ -PA 标记率的最重要因素是 pH, 体系 pH 对 $^{99}\text{Tc}^m$ -PA 标记率的影响结果列于表 1。由表 1 可见, 在 pH = 7 时, $^{99}\text{Tc}^m$ -PA 的标记率最高, > 95%。在 pH < 7 时, 配体从标记体系析出固形物, 即在酸性条件下 PHT、PHC 和 PHY 难溶于水, 同时溶解的极少量的配体胺基 $-\text{NH}-$ 与 H^+ 形成 $-\text{NH}_2^+$, 降低了 $-\text{NH}-$ 的供电子对能力, 也就降低了 $^{99}\text{Tc}^m$ -PA 的标记率。在 pH > 7 时, SnCl_2 的水解反应被促进, Sn^{2+} 水解形成白色絮状沉淀, 降低了将 $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4^-$ 还原为 $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_2^+$ 的能力, 由于锡螯合物中, 锡须以 +5 价的 $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_2^+$ 形式存在^[3], 因此, $^{99}\text{Tc}^m$ -PA 标记率降低。

表 1 体系 pH 对 $^{99}\text{Tc}^m$ -PA 标记率的影响

%

$^{99}\text{Tc}^m$ -PA	pH				
	4	6	7	8	10
$^{99}\text{Tc}^m$ -PHT	82	88	98	82	80
$^{99}\text{Tc}^m$ -PHC	87	89	97	88	86
$^{99}\text{Tc}^m$ -PHY	66	90	95	91	83

3.2 亲脂性参数——分配系数的测定

用 NaH_2PO_4 -NaOH 缓冲溶液(pH = 7) 代表亲水体系, 用正辛醇代表亲脂体系, 测其分配系数, 结果列于表 2。表 2 结果表明 3 种 $^{99}\text{Tc}^m$ -PA 亲脂性大小顺序为 $^{99}\text{Tc}^m$ -PHT > $^{99}\text{Tc}^m$ -PHC

>⁹⁹Tc^m-PHY。

3.3 ⁹⁹Tc^m-PA 的小鼠体内分布

3.3.1 ⁹⁹Tc^m-PA 的血液清除 ⁹⁹Tc^m-PA 在小鼠体内的血液清除结果示于图 1。图 1 结果表明 3 种⁹⁹Tc^m-PA 药物经尾静脉注入小白鼠体内后, 90% 以上的注入剂量从血液中被清除; 在注入 2 h 后, 血液中的⁹⁹Tc^m-PA 残留量接近放射性本底, 因此三种⁹⁹Tc^m-PA 都能迅速从血液中被清除。

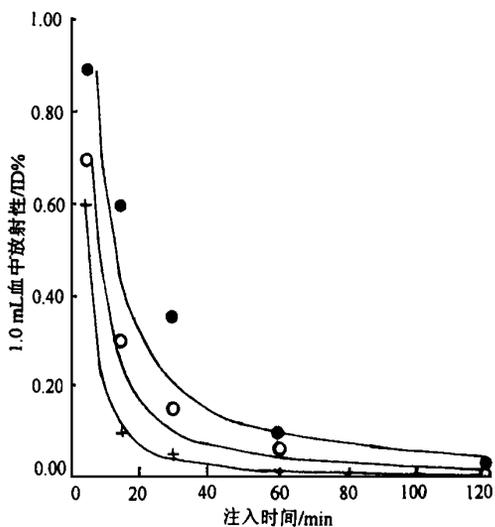


图 1 小鼠静脉注射⁹⁹Tc^m-PA 的血液清除
● --- ⁹⁹Tc^m-PHT; ○ --- ⁹⁹Tc^m-PHY;
+ --- ⁹⁹Tc^m-PHC

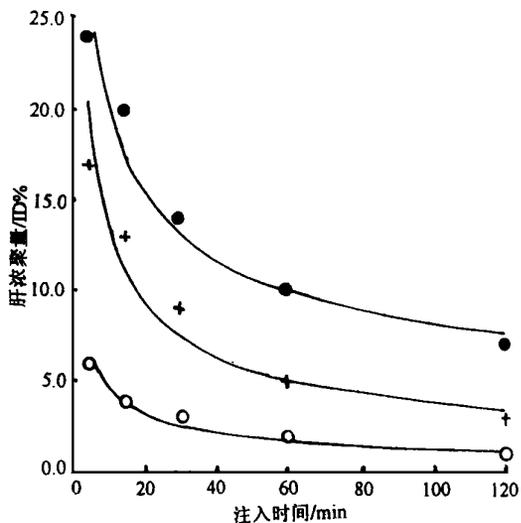


图 2 ⁹⁹Tc^m-PA 在肝中的浓集
● --- ⁹⁹Tc^m-PHT; ○ --- ⁹⁹Tc^m-PHY;
+ --- ⁹⁹Tc^m-PHC

3.3.2 ⁹⁹Tc^m-PA 的肝摄取 ⁹⁹Tc^m-PA 在肝中的浓集结果示于图 2。图 2 结果表明⁹⁹Tc^m-PHT 在肝中浓集量最高, 在注入体内 30 min 时浓集量约为 15%, 在 1 h 时浓集量仍达 12%。⁹⁹Tc^m-PHY 的肝胆浓集量在此 3 种⁹⁹Tc^m-PA 中是最低的, 在 1 h 时仅为 3%。

3.3.3 ⁹⁹Tc^m-PA 的肠道累积排泄量 ⁹⁹Tc^m-PA 在肠道的累积排泄量结果示于图 3。图 3 结果表明 2 h 后⁹⁹Tc^m-PHT 经肝胆分泌排入肠道的累积量达 85%。而⁹⁹Tc^m-PHY 经过肝胆摄取排入肠道的累积量仅为 60%。3 种⁹⁹Tc^m-PA 都能迅速经过肝胆排入肠道。

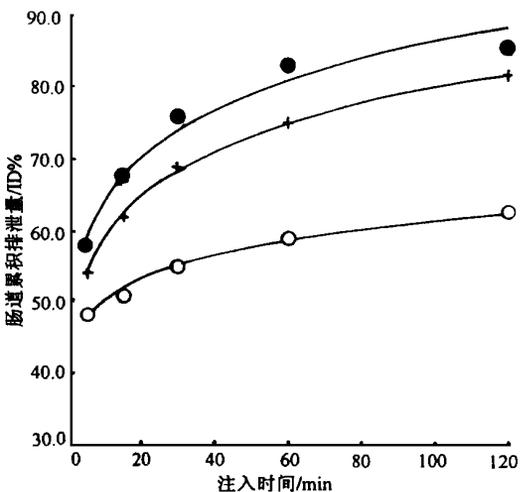


图 3 ⁹⁹Tc^m-PA 在肠道的累积排泄量
● --- ⁹⁹Tc^m-PHT; ○ --- ⁹⁹Tc^m-PHY;
+ --- ⁹⁹Tc^m-PHC

3.4 ⁹⁹Tc^m-PA 的分配系数与体内分布的相互关系比较

具体数据列于表 2。表 2 结果表明⁹⁹Tc^m-PA 的亲脂性与肝胆的浓集量有良好的对应关系, 即

分配系数越大,在相同条件下, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PA 在肝中的浓聚量越高。

表2 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PA 的分配系数与体内分布关系比较

项目	$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHT	$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHC	$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHY
分配系数	23.0 ± 2.0	8.0 ± 1.5	2.8 ± 0.4
肝中浓集量/ID%	12.0 ± 0.5	7.0 ± 0.6	3.3 ± 0.0
1.0 mL 血中放射性/ID%	0.12 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.02 ± 0.01
肠道累积排泄量/ID%	84.0 ± 3.4	75.0 ± 2.7	58.0 ± 3.3
肾累积排泄量/ID%	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	40.0 ± 2.2

注:体内分布取注入体内1h时分布值($x \pm s, n=5$)

4 讨论

(1) PHT、PHC 和 PHY 的分子量分别为 357、542 和 330,一般地配体亲脂性与配体分子量成正比关系,但从表 2 看出, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHC 的亲脂性比 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHT 低,这与配体分子结构有关。PHC 是双氨基酸,存在两个羧基,具有较强的亲水性,而 PHT 仅有一个羧基,又存在大分子的吡啶环,在水中的溶解能力低,因此 PHT 比 PHC 亲脂性高。PHY 的分子量比 PHT 低约 30,亲脂性相差不大,但 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHT 亲脂性参数远大于 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHY,有可能是 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHT 的吡啶环大基团比 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHY 的苯环基团有更大的空间位阻效应,降低了 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHT 在水中的溶解性能,因而 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHT 的亲脂性比 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHY 高。PHC 由于含硫醚键,硫原子的孤对电子更易与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_2^+$ 的空轨道形成螯合键,PHC 分子链较 PHY 长,则 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHC 的亲脂性比 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PHY 高。

(2) 配体结构的变化导致 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PA 亲脂性的变化。通过测定 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PA 在正辛醇-水相中的分配系数即可判定配体亲脂性的大小,同时也可预测 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PA 在动物体内的分布状况,尤其是肝胆浓集量,从而以较少的动物实验量筛选出性能优良的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PA 显像药物。

5 结论

采用三种结构不同的吡哆醛氨基酸与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 螯合,测定了 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PA 在正丁醇-水相中的分配系数,分析了其动物体内分布行为,结果表明分配系数愈高,即亲脂性参数愈高,则 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PA 在肝胆的浓集量愈高。由此可通过测定 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PA 的亲脂性参数来预测 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PA 在肝胆中的浓集量规律。

本工作动物实验由华西医科大学附一院邓侯富完成,谯健、蒲满飞等给予帮助,在此一并致谢。

参 考 文 献

- Eckelman WC, Volkert WA. In Vivo Chemistry of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -chelates. Int J Appl Radiat Isot, 1982, 33; 945-951.
- Azuma MK. $\text{Tc}^{\text{m}}\text{-}^{99}\text{m}(\text{Sn})\text{-N}^{\text{c}}$ -pyridoxylaminates: A New Series of Hepatobiliary. J Nucl Med, 1982, 23 (6); 517-524.

- 3 Azuma MK, Hazue M. Preparation and Biologic Evaluation of Lipophilic Derivatives of Tc-^{99m}(Sn)-pyridoxylidenephnylamine: An Approach to Structure Biodistribution Relationship of Technetium Complexes. *J Label Comp Radiopharm*, 1980, 18(122):133-135.
- 4 Ursula S, Howard WG, Susan ZL, et al. Comparison of Technetium-^{99m} Aminoalkyl Diaminodithiol (DADT) Analogs as Potential Brain Blood Flow Imaging Agents. *J Nucl Med*, 1988, 29(1):73-82.

THE RELATIONSHIP BETWEEN STRUCTURE AND BIODISTRIBUTION OF ⁹⁹Tc^m-PYRIDOXYLAMINO ACIDS FOR HEPATOBILIARY IMAGING AGENTS

Zhang Huaming Luo Shunzhong Liu Zhonglin Zhao Pengji

(*Institute of Nuclear Physics and Chemistry, China Academy of Engineering Physics, Chengdu 610003*)

ABSTRACT

In order to investigate the relationship between structure and biodistribution of ⁹⁹Tc^m-pyridoxylamino acids (PA), pyridoxyl-L-tryptophan (PHT), pyridoxylamino-L-cystine (PHC) and pyridoxylamino-tyrosine (PHY) are labelled with ⁹⁹Tc^m using Sn(II) as a reductant. The labelling yields of ⁹⁹Tc^m-PA is better than 95% at pH = 7.0. The partition coefficients as lipophilic parameter in the octanol-water system are determined. The biodistribution in male mice shows that ⁹⁹Tc^m-PA have fast blood clearance, but the difference is apparent in their hepatobiliary uptakes and intestinal accumulations. Particularly, there is a good correlation between the hepatobiliary uptake and the partition coefficient. The larger the partition coefficient, the higher the lipophilicity. This result may be valuable for developing new ⁹⁹Tc^m-PA of hepatobiliary imaging agent.

Key words ⁹⁹Tc^m-pyridoxylamino acids (⁹⁹Tc^m-PA) hepatobiliary imaging agent structure biodistribution relationship