

Application of NHS-MAG₃ in the radiopharmaceuticals labeling

ZHANG Chun

(Department of Nuclear Medicine, the Affiliated Hospital, the West China University of Medical Sciences, Sichuan Chengdu 610041, China)

Abstract With the rapid development of molecular nuclear medicine, N-hydroxysuccinimidyl S-acetylmercaptoacetyltriglycine (NHS-MAG₃) as one effective bifunctional chelator has been used to radiolabel proteins, small peptides and DNA oligonucleotides with ⁹⁹Tc^m. The lable by the MAG₃-labeling method show high labeling efficiencies and high specific activities and hold desirable stability *in vitro* and *in vivo*. The binding of the lable with plasma protein is low. So many potentially useful radiopharmaceuticals for diagnosis and therapy may be produced via the NHS-MAG₃ method.

Key words N-hydroxysuccinimidyl S-acetylmercaptoacetyltriglycine; bifunctional chelator; radionuclide labeling

文章编号: 1001-098X(2001)03-0100-04

中枢多巴胺转运蛋白显像剂 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1

张海琴

(广州中山大学附属第一医院核医学科, 广东 广州 510089)

摘要: ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1是一种新型中枢多巴胺转运蛋白显像剂,其 SPECT显像在帕金森氏病的早期诊断中具有重要的临床价值。文章综述了近年来⁹⁹Tc^m-TRODAT-1的生化及其标记制备、动物实验、显像方案和临床前研究方面的进展,展示了⁹⁹Tc^m-TRODAT-1在临床有良好的应用前景。

关键词: ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1; 多巴胺转运蛋白; 单光子断层显像; 帕金森病

中图分类号: R817.9 文献标识码: A

多巴胺转运蛋白(dopamine transporters, DAT)是位于多巴胺神经元突触前膜的糖蛋白分子,其功能并不只是简单地重摄取多巴胺(dopamine, DA),它同时又是调控突触间隙DA水平、维系突触前DA合成和储存功能的关键因素及许多神经精神药物潜在的作用靶点。大量研究证实,在某些药物及某些病理生理状态下,DAT数量及功能的变化比突触后膜上受体的变化更为直接、灵敏地反映黑质纹状体通路DA能神经元的改变。因此,DAT的功能显像为人们在活体上观察神经生理病理、高级神经活动和药物治疗等领域的研究开辟了新的途径。目前已有大量的¹³¹I¹⁴C¹⁸标记DAT显像剂的报道,而用⁹⁹Tc^m标记的DAT显像剂

⁹⁹Tc^m-TRODAT-1(⁹⁹Tc^m-β-[N,N'-双(2-巯乙基)乙撑二胺基]甲基-β-(4-氯苯基)托烷)的相关实验结果显示^[1-5],⁹⁹Tc^m-TRODAT-1脂溶性好,能通过完整的血脑屏障进入脑组织与纹状体区的DAT高特异性结合;脑内代谢稳定,纹状体与周围脑组织对比度好,能够获得清晰的脑断层图像。可见,⁹⁹Tc^m-TRODAT-1的问世为人们在该领域的研究提供了更为便利的工具。

1 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1标记方法及其化学特性

1.1 TRODAT-1的⁹⁹Tc^m标记

Kung HF等^[6]首先用多步反应法制备⁹⁹Tc^m-TRODAT-1: 200μg TRODAT-1(0.1mL乙醇溶液)加0.1mL 2mol/L的HCl, 320μg葡庚糖酸钠(GH), 32μg氯化亚锡(SnCl₂·2H₂O), 50μL 0.05mmol/L磷酸氢二钠,调pH值5~6,加0.5~4mL ⁹⁹Tc^mO₄⁻溶液,100℃加热30min冷却即可^[7-10]。经检测,标记率、放化纯均在90%以上,标记液室温下

收稿日期: 2000-10-24

作者简介: 张海琴(1975-),女,广东人,广州中山大学附属第一医院核医学科硕士研究生,主要从事核素脑功能显像研究

审校者: 广州中山大学附属第一医院核医学科 曾世茎

放置 6 h 稳定。

Choi SR等^[11]研制出了只需一步反应的试剂盒: 装在小瓶内的冻干品包括 10^μg TRODAT-1, 32^μg SnCl₂, 10mg 葡庚糖酸钠以及 840^μg EDTA, 制备时将 0.52mL ⁹⁹Tc^mO₄⁻ (约 111MBq) 加入装有冻干品的小瓶内 100[°]C 加热 30min 即可, 终产物 pH 值为 4.5~5.0 与多步反应法相比, 这种新的试剂盒的优势在于不仅制备过程简单, 同时还减少了 TRODAT-1 的用量, 因此它能够更好地满足常规临床应用的需求。

1.2 化学特性

在 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 的化学结构式 (见图 1) 中, +5 价的 [⁹⁹Tc^m] 与 O、N、S 等配位原子形成螯合物, 该核团 [⁹⁹Tc^mO]³⁺ N₂S₂ (分子量为 282) 具有近似金字塔的锥体结构, O 原子位于锥体的顶点^[12]。Meegalla SK等^[12]用高效液相层析法对反应原液进行分析, 发现 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 有两种主要异构体形式: 峰 A 及峰 B, 它们在反应原液中有固定的比例, A:B=1:0.8 由于 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 两种异构体的立体化学结构不同, 它们表现出与大鼠纹状体中的 DAT 不同的结合特性及亲和力, 异构体 A 的脂溶性好, 首次入脑量高 (2min 时为 0.5% ID/brain), 但与 DAT 的亲和力较弱 (K_i=13.87nmol); 而异构体 B 的脂溶性较差, 首次入脑量低 (2min 时为 0.28% ID/brain), 但与 DAT 亲和力高 (K_i=8.42nmol)。将纯化的 A、B 及 A 与 B 的混合物 (A:B=1:0.8) 分别进行猕猴脑 DAT 显像, 异构体混合物获得的图像质量最佳, 异构体 A 的次之, 异构体 B 的最差。可见, 对于 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 的脑 DAT 显像, 高入脑量的特性要比高亲和力的特性更为重要。

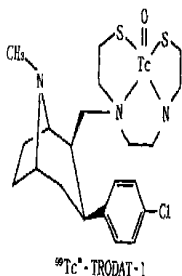


图 1 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 的化学结构式

2 动物实验

Kung MP等^[8]通过一系列动物实验对 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 进行了评估和定性: 大鼠体内分布实验

显示, 纹状体 (ST) 区对 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 特异性摄取, 小脑 (CB) 区无特异性放射性分布, 反映纹状体特异性摄取的相对定量指标 [ST-CB]/CB 值为 0.8; 纹状体对 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 的特异性摄取能被 β-CIT (DAT 特异性结合配基) 所阻断, 而氟哌啶醇 (D₂ 受体特异性结合配基) 及大量未标记的 TRODAT-1 (200^μg/只) 对这种特异性结合没有影响; 用 6-羟多巴 (6-OHDA) 破坏大鼠脑黑质区, 纹状体对 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 的摄取明显降低; 示踪剂在雄性与雌性大鼠体内各组织间的分布无显著差异; 静脉注射 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 后 60min 断颈处死大鼠, 其纹状体区组织匀浆中具有放射性活性的物质 95% 以上为未代谢的 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1, 可见该复合物在脑组织内稳定性很好; 体外结合实验显示, TRODAT-1 和 Re-TRODAT-1 对 DAT 有高亲和力, 抑制常数 K_i 分别为 9.7nmol 和 14.1nmol; 通过行为学研究发现, TRODAT-1 毒性低, 对大鼠运动行为无影响。Fang P等^[13]进行了 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 的大鼠体内分布实验, 结果显示 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 在脑内浓聚较低 (2.6min 入脑量分别为 0.28%、0.12%), 但纹状体摄取相对较高, 且保留好, 同时小、大脑皮质及海马清除较快, 纹状体与小脑的比值随时间延长而升高 (2.30、60、120min 分别为 1.06、1.77、2.40 和 4.45), 肝脏摄取较高 (2.60min 分别为 8.5% 和 16.7% ID 器官); 药物主要经肝代谢后排出体外, 肾脏摄取平稳 (3% ID 器官)。

3 临床应用研究

3.1 动力学模型

了解示踪剂摄取与 DAT 定位之间的关系需要确定 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 在非人灵长类及人类体内代谢的动力学模型。Kushner SA等^[9]假设所用的示踪剂是纯化的 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 (即只具有单一异构体形式), 应用三室模型及 Zevenberg-Marquardt 最小化技术, 对解离常数固定与否进行了对比研究, 结果表明, 应用 ⁹⁹Tc^m-TRODAT-1 作为 DAT 显像剂, 可以通过动态 SPECT 显像准确地估计亲和力及其他相关的动力学常数, 若将解离常数 K 固定 (K=0.004/min), 可进一步缩小参数估计值的变异范围。

3.2 参考区及显像时间的选择

选择恰当的区域作为显像剂非特异性结合或其代谢产物的参考标准是图像正确定量分析的前提。

研究证实^[6,8-10,13,14],大脑纹状体区——尤其是尾核、壳核区 DAT含量丰富,是 DAT显像剂浓聚区,而小脑以及枕叶(O)内 DAT密度很低,可以作为非特异性结合的参考标准,因此可以计算纹状体区 DAT特异性结合率来进行 DAT显像的相对定量分析。

纹状体区 DAT特异性结合率可以用 (ST-CB)/CB或 ST/CB表示^[6,8-10],也可用 (ST-O)/O ST/O尾/O或壳/O表示^[13,14]。Kung HF等^[6]对正常受试者注射^{99m}Tc-TRODAT-1后进行多个时间点的 SPECT显像,发现 120~140min时 CB/O达最佳比值。

3.3 体内分布及剂量估算

任何一种放射性药物,包括^{99m}Tc-TRODAT-1,在临床应用前需估计使用的放射性剂量。Mozley PD等^[10]在正常成年人静脉内弹丸式注射 370±16MBq(10.0±0.42mCi)^{99m}Tc-TRODAT-1后进行显像,全身画出包括各器官在内的 17个感兴趣区(ROI),结果显示:早期全身显像见鼻、阴部及胃有较高放射性分布;断层图像重建后见基底节区有放射性浓集;在注射后的前 22~28h内,肾脏清除 20%~32%;显像剂主要集中在肝脏,剂量随时间增加,注射后 10h达峰值,46h仍有 30% ID(注射剂量)滞留在肝脏,吸收剂量平均水平为 0.04mGy/MBq(0.17rads/mCi)显像剂分布无性别差异。无一个体出现放射性药物不良反应。

3.4 正常人脑 SPECT显像及全身平面显像的初步研究

Kung HF等^[6]对一名正常志愿者静脉内弹丸式注射^{99m}Tc-TRODAT-1后进行 SPECT显像,结果发现:显像剂进入人体后迅速通过血脑屏障(BBB)聚集在脑内,脑首次摄取(0~20min)反映局部脑血流灌注模式;注射后 60~80min基底节区已有高浓度的放射性聚集,120~140min SPECT显像有最佳的靶/本底计数比(基底节:枕叶=2:1),5h基底节与小脑间放射性分布仍有显著差异;全身平面显像显示,肝、肺、肌肉及胃肠道显著摄取显像剂,结肠、直肠是胃肠道中显像剂摄取最多的部位。

3.5 帕金森病(PD)患者 SPECT显像初步研究

Tzen KY等^[14]对 29例 PD患者和 5名正常人在给药后 4h进行 SPECT显像,比较尾状核及壳核对^{99m}Tc-TRODAT-1的摄取,结果表明:纹状体的摄取在正常人及 PD患者间有显著差异($P <$

0.001),患者纹状体的摄取在症状侧与症状对侧间无显著差异($P > 0.01$),但尾状核较壳核的减少更为显著($P < 0.001$)。可见,^{99m}Tc-TRODAT-1的 SPECT显像可以对 PD患者作出诊断。

4 小结与展望

^{99m}Tc-TRODAT-1是一种新型的多巴胺转运蛋白显像剂,适合常规核医学应用,为 DAT相关的神经元变性疾病的临床研究开辟了广阔的前景。尽管目前在这方面的研究才开始,但随着^{99m}Tc标记 DAT显像剂研究的广泛开展,人们可以从分子水平上探讨疾病病因,进行可靠的诊断、鉴别诊断、监测病情发展,尤其是对 PD患者可达到早期诊断(亚临床诊断)、早期治疗的目的,并能评价疗效、估计预后。

参考文献:

- [1] Meegalla SK, Plossl K, Kung MP, et al. Technetium-^{99m} labeled tropanes as dopamine transporter imaging agents [J]. *Bioconj Chem*, 1996, 7: 421-429.
- [2] Meltzer PC, Blundell P, Jones AG, et al. A technetium-^{99m} SPECT imaging agent which targets the dopamine transporter in primate brain [J]. *J Med Chem*, 1997, 40: 1835-1844.
- [3] Madras BK, Jones AG, Machmood A, et al. Technetium-^{99m} a high affinity technetium-^{99m} probe to label the dopamine transporter in brain by SPECT imaging [J]. *Synapse*, 1996, 22: 239-246.
- [4] Tamagnan G, Gao YG, Baldwin RM, et al. Synthesis of beta-CIT-BAT, a potential ^{99m}Tc imaging ligand for dopamine transporter [J]. *Tetrahedron Lett*, 1996, 37: 4353-4356.
- [5] Zoghbi SS, Tamagnan G, Baldwin AN, et al. Synthesis of a dopamine transporter binding cyclopentadiene phenyltropane conjugate complexed with rhenium and ^{99m}Tc [J]. *J Nucl Med*, 1997, 38: 100P.
- [6] Kung HF, Kim HJ, Kung MP, et al. Imaging of dopamine transporters in humans with technetium-^{99m} TRODAT-1 [J]. *Eur J Nucl Med*, 1996, 23: 1527-1530.
- [7] Meegalla SK, Plossl K, Kung MP, et al. Synthesis and characterization of Tc-^{99m} labeled tropanes as dopamine transporter imaging agents [J]. *J Nucl Chem*, 1997, 40: 9-17.
- [8] Kung MP, Stevenson DA, Plossl K, et al. [^{99m}Tc] TRODAT-1 a novel technetium-^{99m} complex as a dopamine transporter imaging agent [J]. *Eur J Nucl*

Med, 1997, 24 372-380.

- [9] Kushner SA, Mc Elgin WT, Kung MP, et al. Kinetic modeling of [^{99m}Tc] TRODAT-1: a dopamine transporter imaging agent [J]. J Nucl Med, 1999, 40 150-158.
- [10] Mozley PD, Stubbs JB, Plossl K, et al. Biodistribution and dosimetry of TRODAT-1: technetium- 99m tropane for imaging dopamine transporters [J]. J Nucl Med, 1998, 39 2069-2076.
- [11] Choi SR, Kung MP, Plossl K, et al. An improved kit formulation of a dopamine transporter imaging agent [^{99m}Tc] TRODAT-1 [J]. Nucl Med Biol, 1999, 26 461-466.

- [12] Meegalla SK, Plossl K, Kung MP, et al. Specificity of diastereomers of ^{99m}Tc -TRODAT-1 as dopamine transporter imaging agents [J]. J Med Chem, 1997, 40 9-17.
- [13] Fang P, Wu CY, Liu Zhen-guo, et al. The preclinical pharmacologic study of dopamine transporter imaging agent ^{99m}Tc -TRODAT-1 [J]. Nucl Med Biol, 2000, 27 69-75.
- [14] Tzen KY, Kao PF, Yen TC, et al. Imaging of dopamine transporters in the human brain in healthy and Parkinsons disease with $^{99}\text{Tc}^m$ -TODAT-1 SPECT [J]. J Nucl Med, 1999, 40(supple): 27P.

$^{99}\text{Tc}^m$ -TRODAT-1 the central dopamine transporter imaging agent

ZHANG Hai-qin

(Department of Nuclear Medicine, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University of Medical Science, Guangzhou 510089, China)

Abstract $^{99}\text{Tc}^m$ -TRODAT-1 is a novel technetium- 99m complex as a dopamine transporter imaging agent. The imaging of SPECT with it will have an important value in the early diagnosis of Parkinson's disease. This article reviews the progress of this promising agent.

Key words $^{99}\text{Tc}^m$ -TRODAT-1; dopamine transporter; SPECT; Parkinson's disease

文章编号: 1001-098X(2001)03-0103-04

心肌灌注显像剂: $^{99}\text{Tc}^m$ -N-NOET

欧阳伟

(第一军医大学珠江医院核医学科, 广州 510282)

摘要: $^{99}\text{Tc}^m$ -N-NOET{双[N-乙氧, N-乙基(二硫代氨基甲酸酯)氮化锝](V)}是一种锝标记中性亲脂性心肌灌注显像剂, 具有心肌首过摄取率高、心肌滞留时间长之优点。其心肌摄取部位在细胞膜, 且摄取不依赖于能量。L型钙通道阻滞剂能影响其心肌摄取。 $^{99}\text{Tc}^m$ -N-NOET不仅具有 ^{201}T 类似的心肌再分布, 而且其心肌灌注显像在诊断冠状动脉疾病的敏感性和特异性方面与 ^{201}T 类似。

关键词: $^{99}\text{Tc}^m$ -N-NOET; 心肌灌注显像; 锝; 对比研究

中图分类号: R817.9 文献标识码: A

$^{99}\text{Tc}^m$ -N-NOET的化学名为双[N-乙氧, N-乙基(二硫代氨基甲酸酯)氮化锝](V)。初步研究表明, $^{99}\text{Tc}^m$ -N-NOET具有心肌首过摄取率高、心肌

滞留时间长以及具有 ^{201}T 类似的心肌再分布现象等优点^[1]。目前, $^{99}\text{Tc}^m$ -N-NOET正在进行II~III期临床试验^[2]。初步结果显示, $^{99}\text{Tc}^m$ -N-NOET心肌灌注显像在诊断冠状动脉疾病的敏感性和特异性方面与 ^{201}T 类似^[3]。

1 生物学特性

$^{99}\text{Tc}^m$ -N-NOET为一种中性亲脂性锝标记心肌灌注显像剂, 含有二个 $\text{Tc}=\text{N}$ 复合键和一个二硫

收稿日期: 2000-02-07

作者简介: 欧阳伟(1963年-), 男, 江西婺源人, 第一军医大学珠江医院核医学科主治医师, 讲师, 医学硕士, 主要从事临床核心脏病学研究。

审校者: 第一军医大学珠江医院心内科 钱学贤