

Imaging, 2008, 35(1): 166-173.

of LV dyssynchrony. J Nucl Cardiol, 2007, 14(4): S102-S103.

[9] Nichols KJ, Van Tosh A, Siddiqi S, et al. Comparison between myocardial perfusion and blood pool gated SPECT measurements

(收稿日期: 2009-06-09)

^{99m}Tc 标记双膦酸盐骨显像剂的研究进展

刘健 张现忠 张仕坚 王学斌

【摘要】 双膦酸盐是一类具有很强亲骨性的药物, ^{99m}Tc 标记的双膦酸盐如 ^{99m}Tc -亚甲基二膦酸盐 (^{99m}Tc -MDP) 等被广泛应用于骨显像。近些年来, 为了克服 ^{99m}Tc -MDP 的缺点, 许多新型的双膦酸配体被设计与合成, 以期获得性能更加优异的骨显像剂。该文对近 10 年来发展的 ^{99m}Tc 标记双膦酸盐类骨显像剂的结构与性能进行了综述。

【关键词】 二膦酸盐类; 锝; 同位素标记; 骨显像剂

The new advanced of ^{99m}Tc -labeled bisphosphonates as bone scintigraphy agent

LIU Jian, ZHANG Xian-zhong, ZHANG Shi-jian, WANG Xue-bin

(Key Laboratory of Radiopharmaceuticals, Ministry of Education, Department of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

【Abstract】 Bisphosphonates have a strong affinity for bone tissue and hydroxyapatite. Some of them have been labelled with ^{99m}Tc for bone scintigraphy agent. This article is intended to summarize research and development in some new ^{99m}Tc labeled bisphosphonates as bone scintigraphy agent in recent years.

【Key words】 Disphosphonates; Technetium; Isotope labeling; Bone scintigraphy agent

骨显像是评价骨质代谢活性的常用方法, 其对骨转移诊断方面有着独特的优势, 能对病变进行更为早期的确诊。理想的骨显像剂应具有以下的特点: ①对骨组织中的羟基磷灰石吸附能力强; ②特异性强, 骨损坏部位浓聚高, 而在正常骨、其他组织中的浓聚低; ③骨显像剂的配体合成与标记过程简单, 骨显像剂稳定性好。

^{99m}Tc 的 γ 射线能量 (140 keV) 适中, 半衰期不长, 是很适合于骨显像的放射性核素。自 1971 年 Subramanian 等^[1] 合成第一个骨显像剂 ^{99m}Tc -焦磷酸盐以来, 众多 ^{99m}Tc 标记的配体被设计和合成, 骨显像剂的研究得到了长足的发展。骨显像剂主要以 SnCl_2 为还原剂, 用 ^{99m}Tc 标记磷酸盐类和膦酸盐类两大类, 根据配体所含的膦酸基的数目, 膦酸盐类又分为单膦酸盐类、双膦酸盐类和多膦酸盐类

类。磷酸盐类 (如 ^{99m}Tc -焦磷酸盐) 以 P-O-P 为骨架, 在体内易被酶水解; 双膦酸盐类以 P-C-P 为基本骨架, 具有体内稳定、亲骨性好、血清除快等优点。近年来, 含有 P-O-P 键的磷酸盐已被含有 P-C-P 键的双膦酸盐逐渐取代。目前, 临床上使用的双膦酸盐类骨显像剂主要有亚甲基二膦酸盐 (methylene diphosphonate, MDP)、羟基亚乙基双膦酸盐 (hydroxy-ethylene diphosphonate, HEDP) 和羟基亚甲基双膦酸盐 (hydroxy-methylene diphosphonate, HMDP) 等。

为提高双膦酸盐的亲骨性和体内稳定性、降低非靶组织吸收、加速血液清除速度, 人们进行了大量的研究以寻找新型双膦酸盐骨显像剂, 本文尝试对近年来研究的 ^{99m}Tc 标记的双膦酸盐类骨显像剂进行总结。

1 普通双膦酸盐

为克服 MDP 的缺点, 吕恭序等^[2] 合成了二羟基二膦胶乙烷、二羟基二膦酸丁烷及二羟基二膦酸

戊烷三种化合物,并对它们的 ^{99m}Tc 标记条件及标记化合物在小鼠体内分布进行了对比研究。结果表明, ^{99m}Tc 标记的三种双磷酸配体均显示出了较高的骨摄取及骨滞留,而且2h的血清除率均高于目前临床应用的 ^{99m}Tc -MDP;其中,二羟基二磷酸乙烷的亲骨性高于二羟基二磷酸戊烷和二羟基二磷酸丁烷,作者认为这是因为后两者具有甲基空间位阻,阻碍了其与骨的结合。

刘丽琴等^[3-4]合成了新型双磷酸配体亚乙基双磷酸盐(ethylene diphosphonate, EDP)和1-氨基亚甲基双磷酸盐(1-amino-methylene diphosphonate, AMDP),并成功地对EDP和AMDP进行了 ^{99m}Tc 标记,标记率均高于95%;小鼠体内分布实验表明, ^{99m}Tc -EDP具有较强的亲骨性能,其被骨摄取优于 ^{99m}Tc -MDP,并且随着时间的增加,骨与非靶器官摄取的比值都在增加,远高于 ^{99m}Tc -MDP;犬全身 ^{99m}Tc -EDP的SPECT实验表明,随着时间的增加,图像逐渐清晰,2h后即可获得非常清晰的图像; ^{99m}Tc -AMDP的正常小鼠体内分布实验表明, ^{99m}Tc -AMDP与 ^{99m}Tc -MDP均具有较强的亲骨性,但前者初期骨摄取率明显高于 ^{99m}Tc -MDP,且初期骨与肌肉、骨与血的摄取率之比要好于 ^{99m}Tc -MDP,是一类有待深入研究的新型骨显像剂。

2 羟基氨基(胺基)双磷酸

此类双磷酸的结构比较有点,双磷酸P-C-P键中的C原子上两个氢原子分别被一个羟基和一个带氨基(胺基)的烷基所取代。一些研究表明,分子中含有氨基(或胺基)的双磷酸配体在与 ^{99m}Tc 形成配位化合物时,具有更强的配位作用、更高的分子间作用力、更低的脂溶性。因此,相对于普通双磷酸,此类双磷酸的 ^{99m}Tc 配合物的骨吸收更高、软组织吸收更低、清除更快。

帕米膦酸(Pamidronate)可以抑制羟基磷灰石的溶解和破骨细胞的活性,对骨质的吸收具有十分显著的抑制作用,对癌症的溶骨性骨转移所致的疼痛有止痛作用。 ^{99m}Tc 标记的帕米膦酸也可以用于骨显像,Kumar等^[5]用大鼠正常骨和骨折骨模型对 ^{99m}Tc -帕米膦酸和 ^{99m}Tc -MDP的骨显像作用进行了对比实验:静脉注射 ^{99m}Tc -帕米膦酸和 ^{99m}Tc -MDP后,分别在2h和12h测量正常骨和骨折骨的摄取量,结果显示正常骨中 ^{99m}Tc -帕米膦酸的摄取量远

高于 ^{99m}Tc -MDP的摄取量,骨折骨模型中 ^{99m}Tc -帕米膦酸的摄取量也大于 ^{99m}Tc -MDP。因此, ^{99m}Tc -帕米膦酸有可能成为一种优良的骨显像剂。

英卡膦酸(Incadronate)在临床上主要用于治疗绝经后骨质疏松症和骨量减少,也用于减缓因恶性肿瘤引起的骨转移疼痛。Shigematsu等^[6]报道, ^{99m}Tc -英卡膦酸在动物软组织中摄取较低,骨的摄取则较高[2h为(3.22±0.68)%ID/g],相同时间下, ^{99m}Tc -MDP和 ^{99m}Tc -HMDP在骨中的摄取值分别为1.484%ID/g和2.579%ID/g,因此, ^{99m}Tc -英卡膦酸有望成为新的骨显像剂。

唑来膦酸(Zoledronate)是分子内具有咪唑基的第三代双磷酸盐类药物,主要用于治疗因恶性肿瘤骨转移引起的高血钙症及多发性骨髓瘤和实体瘤所致骨转移。鉴于唑来膦酸对于骨组织具有很高的亲和性,以唑来膦酸衍生物为配体制备骨显像剂引起了不少人的兴趣。王洪勇等^[7]用 ^{99m}Tc 标记唑来膦酸制成 ^{99m}Tc -唑来膦酸,希望获得较为理想的骨显像,特别是骨肿瘤显像。他们以氯化亚锡为还原剂,制得放化纯和标记率大于90%的 ^{99m}Tc -唑来膦酸,小鼠体内生物学分布表明,静脉注射 ^{99m}Tc -唑来膦酸后30min,骨摄取达13.45%ID/g,骨/肌肉比、骨/血比分别达到28.01和16.96;兔全身SPECT表明,静脉注射后75min,即可获得清晰的骨显像。罗世能等^[8]对唑来膦酸的衍生物2-(2-methylimidazol-1-yl)-1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid(MIDP)进行 ^{99m}Tc 标记,并进行了正常小鼠生物学分布实验和新西兰兔的SPECT骨显像,结果显示, ^{99m}Tc -MIDP在骨中的摄取随时间延长而逐渐增加,3h时达14.19%ID/g,而在血液中则随时间延长而迅速下降,在3h时降为0.15%ID/g,骨/血比达到94.60; ^{99m}Tc -MIDP在心、肝、脾、肺和肌肉中的摄取都较低,主要通过肾排泄;兔SPECT全身显像显示,在3h时,肝、肺清除快,全身骨显像清晰。牛国塞等^[9]对唑来膦酸的咪唑环进行了化学结构改造,他们以2-乙基咪唑为原料合成了唑来膦酸的衍生物2-(2-乙基咪唑-1-基)-1-羟基乙烷-1,1-双磷酸[2-(2-ethylimidazol-1-yl)-1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid,EIDP],制备成 ^{99m}Tc -EIDP后进行骨显像研究,小鼠体内生物学分布结果显示, ^{99m}Tc -EIDP在骨中的摄取随时间延长而逐渐增加,1h时峰值达23.76%ID/g,1h后在骨中的摄取随

时间延长而略有降低；而在其他脏器中则在注射后 5 min 或 10 min 时最高，之后随时间延长而迅速下降；注射后 2 h 可获得清晰兔骨显像图像。结果表明，在咪唑环上引入乙基有利于提前骨显像的时间。

3 分子中含有双功能连接剂的双膦酸

在大多数 ^{99m}Tc 标记的双膦酸中，双膦酸分子中的膦酸基参与 ^{99m}Tc 配位，这种配位作用降低了膦酸基与骨组织中 Ca^{2+} 的配位能力，也就降低了 ^{99m}Tc 标记物的亲骨性能。鉴于以上原因，一些研究者试图将常见的双功能连接剂或其他特殊设计的分子结构引入到双膦酸分子中，开发新一代的骨显像剂。在这些新型的骨显像剂分子中， ^{99m}Tc 不是与膦酸基配位，而是与双功能连接剂或其他特殊设计的分子形成稳定的配位键，从而使膦酸基裸露出来，不会降低配合物的亲骨性。这类新一代的骨显像剂既降低其他非靶组织和器官的吸收，又提高了其亲骨性能，具有非常好的发展前景。

Verbeke 等^[10] 将双半胱氨酸 (ethylene dicycysteine, EC) 连接到 AMDP 的分子中，合成了一种新型双膦酸 EC-AMDP，后者通过 N2S2 方式与 ^{99m}Tc 形成稳定的配合物 ^{99m}Tc -EC-AMDP，从而使 AMDP 部分的膦酸基完全裸露出来。大鼠的生物实验表明，在注射后 30 min、60 min， ^{99m}Tc -EC-AMDP 与 ^{99m}Tc -MDP 的骨摄取量相近，但是在 120 min 后 ^{99m}Tc -EC-AMDP 的骨摄取量几乎比 ^{99m}Tc -MDP 多一倍，而两者的肾、肝摄取量在不同的时间点基本相似，而且 ^{99m}Tc -EC-AMDP 的血本底远低于 ^{99m}Tc -MDP；兔和猴的 SPECT 全身显像也证实， ^{99m}Tc -EC-AMDP 的血清除快，肾为主要清除途径，注射后 2 h 即可获得非常清晰的骨骼图像。

Palma 等^[11] 设计、合成了 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ 核标记的包含吡唑环的双膦酸 (pyrazolyl-containing bisphosphonic acid, PZ-BPOH)，该双膦酸的侧链分子部分可以与 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ 核形成稳定的配合物，从而使分子中的膦酸基裸露而不参与配位，膦酸基的亲骨性不会因为 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ 核的配位作用而被削弱，通过对其 $\text{Re}(\text{CO})_3$ 晶体研究，可以确定 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -PZ-BPOH 是结构单一的配合物，它在体内和体外都很稳定，既不会分解也不会被氧化。CD-1 小鼠的生物分布实验表明，尽管其骨吸收并不是

太高 $\{(3.04 \pm 0.47) \% \text{ID/g}\}$ ，但是其骨/血比和骨/肌肉比较高，血清清除快，非靶组织和器官吸收低，而且放射性清除快，主要是通过肾和膀胱排泄，注射后 1 h，大约 72% 的放射性被排泄，是一种很有前途的骨显像剂。

Ogawa 等^[12] 将双功能连接剂巯乙酰基三甘氨酸 (mercaptoacetyl glycyl glycyl glycine, MAG_3) 和朕烟酰胺 (6-hydrazinopyridine-3-carboxylic acid, HYNIC) 分别引入到双膦酸分子氨基羟丁烯基苯 (4-amino-1-hydroxybutylidene-1, 1-bisphosphonate, HBP) 中，制备了放化纯均大于 95% 的 ^{99m}Tc - MAG_3 -HBP 和 ^{99m}Tc -HYNIC-HBP。体外亲骨实验表明，与 ^{99m}Tc -HMDP 相比， ^{99m}Tc - MAG_3 -HBP 和 ^{99m}Tc -HYNIC-HBP 具有更强的亲骨性；大鼠生物学分布实验表明， ^{99m}Tc - MAG_3 -HBP 和 ^{99m}Tc -HYNIC-HBP 比 ^{99m}Tc -HMDP 具有更强的骨吸收 [注射后 60 min，骨放射性吸收分别为 $(4.23 \pm 0.25) \% \text{ID/g}$ 、 $(3.96 \pm 0.36) \% \text{ID/g}$ 和 $(3.16 \pm 0.51) \% \text{ID/g}$]。但由于 ^{99m}Tc -HYNIC-HBP 和 ^{99m}Tc -HMDP 的血清除相近，因此 ^{99m}Tc -HYNIC-HBP 具有比 ^{99m}Tc -HMDP 更高的骨/血比 (在 60 min 时，两者分别为 123.20 ± 18.30 和 93.40 ± 19.81)；而 ^{99m}Tc - MAG_3 -HBP 的血清除较 ^{99m}Tc -HMDP 慢，因此 ^{99m}Tc - MAG_3 -HBP 的骨/血比 (在 60 min 时为 59.7 ± 10.41) ^{99m}Tc -HMDP 低。结果表明，与 ^{99m}Tc -HMDP 相比， ^{99m}Tc -HYNIC-HBP 具有更强的骨吸收、更高的骨/血比和更短的显像时间，是很有发展潜力的骨显像剂。

4 NO 供体双膦酸

一氧化氮 (nitric oxide, NO) 是重要的信使物质，参与体内众多的生理和病理过程，在骨代谢及骨质疏松症治疗中也发挥着重要的作用。Loretta 等^[13] 设计合成了几种 NO 供体双膦酸衍生物，评估了它们对破骨细胞的抑制作用，并用 ^{99m}Tc 标记后对它们的体外亲骨性进行了评估，结果表明， ^{99m}Tc 标记的这些 NO 供体双膦酸衍生物对羟基磷灰石具有很高的亲和性。

王学斌等^[14] 设计合成了一系列的 NO 供体双膦酸衍生物 1-羟基-4-6-硝基己酰胺丁烷-1, 1-二膦酸 (1-hydroxy-4-(6-(nitrooxy) hexanamido) butane-1, 1-diylidiphosphonic acid, HEX-ABP)、1-羟基-4-4-硝基甲基苯酰胺丁烷-1, 1-二膦酸 (1-

hydroxy-4-(4-(nitrooxymethyl) benzamido) butane-1, 1-diylidiphosphonic acid, NMB-ABP) (图 1), 用 $^{99m}\text{Tc}^m$ 标记得到了相应的配合物。正常小鼠的生物学分布实验表明, 其中的 $^{99m}\text{Tc}^m$ -NMB-ABP 在注射后 15 min、30 min、60 min, 骨组织的摄取量分别为 36.33%ID/g、41.76%ID/g、43.93%ID/g, 表明其在骨组织中有很好的摄取和滞留; 另外, 对应时间血液摄取量分别为 0.93%ID/g、0.40%ID/g、0.19%ID/g, 肝摄取量分别为 0.40%ID/g、0.23%ID/g、0.19%ID/g。与 $^{99m}\text{Tc}^m$ -MDP 相比较, $^{99m}\text{Tc}^m$ -NMB-ABP 在骨组织初期摄取高、滞留时间长; 除肾外, 在其他的非靶组织中, 尤其是在肝、脾中的聚集浓度有非常显著的降低, 体现出很好的骨与非靶器官比值, 有望成为一种新型骨显像剂。

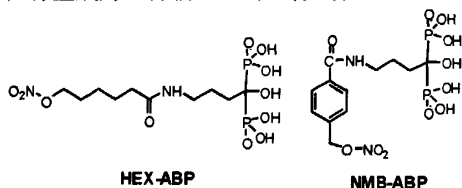


图 1 两种 NO 供体双磷酸衍生物结构示意图

5 结论

与普通的双磷酸 MDP、HEDP 和 HMDP 相比, 作为第三代治疗抗代谢性骨病药物的羟基氨基(胺基)双磷酸具有更强的亲骨性。研究表明, 它们中的帕米磷酸、唑来磷酸等 $^{99m}\text{Tc}^m$ 标记的配合物均表现出良好的生物学性能, 有望成为新型骨显像剂和 治疗剂。其次, 将双功能连接剂, 如 HYNIC、MAG₃ 等引入到双磷酸分子中, 可得到含有双功能连接剂的双磷酸盐, 由于 HYNIC、MAG₃ 等双功能连接剂直接与 $^{99m}\text{Tc}^m$ 作用而形成稳定配合物, 使磷酸基裸露出来, 因此具有更强的骨吸收、更高的骨/血比和更短的显像时间, 是很有发展潜力的一类骨显像剂。另外, NO 供体双磷酸衍生物的初步生物学实验数据表明, $^{99m}\text{Tc}^m$ 标记的 NO 供体双磷酸衍生物具有非常好的亲骨性能, 加上骨与非靶器官

比值高, 也很有希望成为新一代的骨显像剂。

参 考 文 献

- [1] Subramanian G, McAfee JG, Bell EG, et al. $^{99m}\text{Tc}^m$ -labeled polyphosphate as a skeletal imaging agent. *Radiology*, 1972, 102(3): 701-704.
- [2] 吕恭序, 陈红映. 二磷酸类骨显像剂的研究. *核技术*, 1999, 22(11): 682-685.
- [3] 刘丽琴, 李至敏, 王学斌. 新型骨显像剂 $^{99m}\text{Tc}^m$ -EDP 的合成与研究. *北京师范大学学报(自然科学版)*, 2004, 40(1): 75-79.
- [4] 刘丽琴, 杨建权, 李晔, 等. 一种新型骨显像剂 $^{99m}\text{Tc}^m$ -AMDP 的初步研究. *北京师范大学学报(自然科学版)*, 2003, 39(2): 230-234.
- [5] Kumar V, Kumar D, Howman-Giles RB, et al. Is (99m)Tc-labelled pamidronate a better agent than (99m)Tc-medronate for bone imaging?. *Nucl Med Commun*, 2007, 28(2): 101-107.
- [6] Shigematsu M, Shiomi S, Iwao H, et al. New bone-seeking agent: animal study of Tc-99m-incadronate. *Ann Nucl Med*, 2002, 16(1): 55-59.
- [7] 王洪勇, 罗世能, 谢敏浩, 等. 新型骨显像剂 $^{99m}\text{Tc}^m$ -ZL 的制备和动物实验研究. *核技术*, 2006, 29(6): 438-441.
- [8] 罗世能, 王洪勇, 谢敏浩, 等. $^{99m}\text{Tc}^m$ -MIDP 的制备及其生物学分布. *中华核医学杂志*, 2005, 25(6): 341-343.
- [9] 牛国塞, 罗世能, 严孝红, 等. $^{99m}\text{Tc}^m$ -EIDP 的制备及生物学分布. *核技术*, 2008, 31(9): 698-701.
- [10] Verbeke K, Rozenski J, Cleynhens B, et al. Development of a conjugate of (99m)Tc-EC with aminomethylenediphosphonate in the search for a bone tracer with fast clearance from soft tissue. *Bioconjug Chem*, 2002, 13(1): 16-22.
- [11] Palma E, Oliveira BL, Correia JD, et al. A new bisphosphonate-containing $^{99m}\text{Tc}^m$ (I) tricarbonyl complex potentially useful as bone-seeking agent: synthesis and biological evaluation. *J Biol Inorg Chem*, 2007, 12(5): 667-679.
- [12] Ogawa K, Mukai T, Inoue Y, et al. Development of a novel $^{99m}\text{Tc}^m$ -chelate-conjugated bisphosphonate with high affinity for bone as a bone scintigraphic agent. *J Nucl Med*, 2006, 47(12): 2042-2047.
- [13] Lazzarato L, Rolando B, Lolli ML, et al. Synthesis of NO-donor bisphosphonates and their in-vitro action on bone resorption. *J Med Chem*, 2005, 48(5): 1322-1329.
- [14] 王学斌, 刘键, 张现忠, 等. 一类新型亲骨性 $^{99m}\text{Tc}^m$ 配合物及其制备和应用. *中国*, 10118681.6. 2008-08-22.

(收稿日期: 2009-06-05)