

CN/201607

CNIC-00547

IAE-0100

# 中国核科技报告

新型脑局部血流量灌注显像剂  
 $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  的研制

THE DEVELOPMENT OF  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$ :  
A NEW RADIOPHARMACEUTICAL FOR  
REGIONAL CEREBRAL BLOOD PERFUSION IMAGING

*(In Chinese)*



原子能出版社

中国核情报中心  
China Nuclear Information Centre



黄晋杰:中国原子能科学研究院工程师,1985年毕业于华东化工学院能源化工系有机合成专业。

Huang Jingjie, Engineer of the China Institute of Atomic Energy. Graduated from the Department of Energy Source Chemical Technology, East China Institute of Chemical Technology in 1985, majoring in organic synthesis.

CNIC-00547

IAE-0100

# 新型脑局部血流量灌注显像剂 $^{99m}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO 的研制

白兰芹 黄晋杰 范礼 白素珍

李国利 景慧 肖伦

(中国原子能科学研究院,北京)

## 摘 要

$^{99m}\text{Tc}$  标记的外消旋六甲基丙二胺肟( $^{99m}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO)是一种理想的局部脑血流量灌注显像剂。由于改进了合成和分离同分异构体的方法,得到了纯度大于99%的外消旋六甲基丙二胺肟(d,l-HM-PAO)和纯的内消旋六甲基丙二胺肟(meso-HM-PAO)。简化分离步骤时,利用 $^1\text{H}$  NMR 技术监测分离过程中两种异构体的相对含量,可保证 d,l-HM-PAO 配体的纯度。将新鲜 $^{99m}\text{Tc}$  洗脱液加入无菌无热原冻干药盒试剂中,即形成 $^{99m}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO 静脉注射液, $^{99m}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO 的放化纯度大于80%。小白鼠体内分布实验表明, $^{99m}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO 在脑中的摄取量为2.24%I. D.,在脑内滞留时间达到24h时,仍有摄取量的72%的放射性保留在脑内。而 $^{99m}\text{Tc}$ -meso-HM-PAO 的脑摄取量为1.93%I. D.时,在脑内清除较快,至24h时,只有最初摄取量的25%残存在脑内。

# THE DEVELOPMENT OF $^{99m}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO: A NEW RADIOPHARMACEUTICAL FOR REGIONAL CEREBRAL BLOOD PERFUSION IMAGING

(In Chinese)

Bai Lanqin    Huang Jinjie    Fan Li    Bai Suzhen

Li Guoli    Jing Hui    Xiao Lun

(CHINA INSTITUTE OF ATOMIC ENERGY, BEIJING)

## ABSTRACT

The  $^{99m}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO is an ideal radiopharmaceutical for regional cerebral blood perfusion imaging. The improvement of synthesis and separation of diastereoisomers leads to obtain high purity ( $>99\%$ ) of d,l-HM-PAO and meso-HM-PAO. During separation  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy was used to monitor the relative composition of these two diastereoisomers that can ensure the purity of pligand of d, l-HM-PAO. The intravenous injection of  $^{99m}\text{Tc}$ -d, l-HM-PAO was formed by adding fresh  $^{99m}\text{Tc}$  washing liquor into a sterile, pyrogen-free and freeze-dried vial. The radiochemical purity (RCP) of  $^{99m}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO was greater than 80%. From the experiments of  $^{99m}\text{Tc}$ -d, l-HM-PAO in mice, after two minutes of intravenously (I. V. ) administration about 2.24% of injected dose (I. D. ) appeared in the brain, and after 24 hours about 72% of radioactivity of injected dose still left in the brain. But for the  $^{99m}\text{Tc}$ -meso-HM-PAO, after two minutes of i. v. administration, about 1.93% of I. D. appeared in the brain, and 24 hours later, 25% of radioactivity of I. D. was in the brain. This result shows that in the brain the radioactivity of  $^{99m}\text{Tc}$ -meso-HM-PAO declines faster than that of  $^{99m}\text{Tc}$ -d, l-HM-PAO.

## 前 言

脑血管疾病是导致人类死亡的常见病种之一。许多疾病如中风、脑栓塞、短暂性缺血、局灶性癫痫及偏头痛均会发生脑血流量的改变。因此测定局部脑血流量(rCBF)为脑部疾病的诊断提供了重要的依据。此外,测定脑局部血流量是研究大脑功能最基本的内容之一。

作为理想的测定局部脑血流量的显像剂应具备下列性质:

- (1) 药物分子呈中性亲脂性,分子量较适中(小于 500daltons),能透过完整的血脑屏障;
- (2) 脑组织对它高度的摄取率;
- (3) 药物进入脑组织后能滞留一定时间,并保持固定分布,保证有足够的时间进行显像;
- (4) 放射性核素的物理性能良好,在  $\gamma$  照相机上有较高的分辨率;
- (5) 药物毒性小,安全,使用方便。

人们为了寻找理想的脑显像剂,进行了大量的研究工作。科学家们曾研制出  $^{75}\text{Se}$  标记的 PIPSE 和 MOSE<sup>[1]</sup>  $^{125}\text{I}$  标记的 IMP<sup>[2]</sup> 和 HIPDM<sup>[3]</sup>,及  $^{201}\text{Tl}$  标记的 DDC<sup>[4]</sup> 等用于局部脑血流的灌注显像。但这些显像剂都存在缺点: $^{75}\text{Se}$  和  $^{201}\text{Tl}$  没有很好的物理性能,而  $^{125}\text{I}$  价格昂贵,不宜广泛使用。人们的研究兴趣转向易得到,具有良好物理性能的  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  核素上来。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$  具有较短的半衰期(6.03h)和适中的射线能量(140keV),而且各医院可很方便地得到  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 。

早期的研究采用极性的放射性药物,例如  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -高锝酸盐,它不能穿过正常的脑组织,这些能穿过损坏了的血脑屏障的药物可以通过显像来研究脑病理学。人们进而合成和研究了一系列的络合物,以便找出能透过正常血脑屏障的中性、亲脂性络合物,使其成为功能性脑显像剂。

研究过程中,人们发现的二胺二巯基(DADT)衍生物能改善  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  络合物在脑内的停留情况<sup>[5]</sup>。接着发现  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PnAO(图 1)具有中性,亲脂性,能够通过完整的血脑屏障<sup>[6]</sup>,但它几乎不在脑内停留,这给测量带来了困难。英国 Amersham 公司合成了一系列 PnAO 衍生物<sup>[7]</sup>。并通过对这些衍生物的研究,证明六甲基丙二胺肟(HM-PAO)的  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  标记物具有临床使用价值<sup>[8,9,10]</sup>。

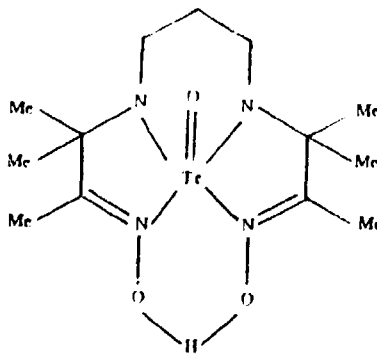


图 1  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PnAO 结构式

·Me 表示  $-\text{CH}_3$

在进一步的研究中,人们发现 HM-PAO 存在两种非对映(立体)异构体(见图 2)<sup>[11]</sup>。通过

实验,证明 d,l-HM-PAO 与  $^{99m}\text{Tc}$  形成的络合物表现出理想的特征<sup>[12]</sup>。在氯化亚锡存在的条件下,d,l-HM-PAO 很快与  $^{99m}\text{Tc}$  形成电中性、亲脂性的络合物,它比 meso-HM-PAO 或 HM-PAO 异构体混合物与  $^{99m}\text{Tc}$  形成的络合物具有更好的脑内摄取,脑内滞留时间长,并能保持分布固定不变。

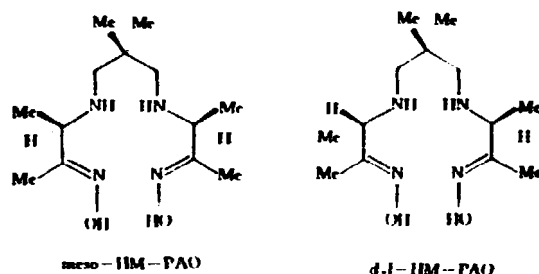


图2 HM-PAO 的同分异构体

目前,  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  已广泛地用于临床诊断脑部疾病和研究脑生理功能。国内医院制备  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  注射液,只能从国外进口 d,l-HM-PAO 冻干药盒。因此,自力更生进行  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  的研制,同时提供 d,l-HM-PAO 冻干药盒试剂,可以填补国内空白,并为国家节省大量的外汇。

## 1 实验部分

### 1.1 配体 d,l-HM-PAO 的制备

从市场商品二乙酰单肟和 2,2-二甲基-1,3-丙二胺(见图 3,A,B 开始,经二步反应即可得 HM-PAO)。第一步缩合反应由 2 mol 二乙酰单肟和 1mol 2,2-二甲基-1,3-丙二胺反应,生成 1mol 的缩合产物-薛夫氏碱(见图 3,C)。得到的缩合产物可不经纯化,直接进行下一步反应。用  $\text{NaBH}_4$  作还原剂,选择性地使 C-3 和 C-9 位上的双键加氢还原成单键,从而得到 HM-PAO(见图 3,D)。用乙酸乙酯分步重结晶,即可分离并得到纯的 d,l-HM-PAO 和纯的 meso-HM-PAO。产物的物理常数的结构通过熔点、 $^1\text{H NMR}$ 、 $\text{IR}$ 、 $\text{MS}$  及元素分析来验证。(见文末附注)

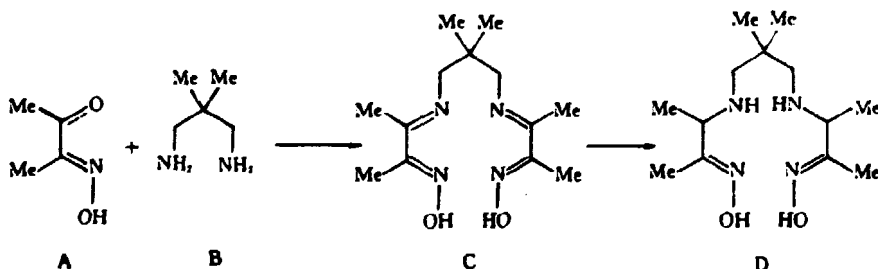


图3 HM-PAO 的合成路线

-Me 表示  $\text{-CH}_3$

### 1.1.1 4,8-二胺-3,6,6,9-四甲基十一烷-3,9-二烯-2,10-二酮二单酯的制备

将 2,3-丁二酮单酯(又称:二乙酰单酯)(9.1g,90.1mmol)溶解于 10mL 纯化处理过的无水乙醇中,电磁搅拌,用水浴加热至约 40℃,同时量取 2,2-二甲基 1,3-丙二胺(5.9mL,49mmol)溶于 5mL 纯化过的无水乙醇中,再缓慢滴加至反应液中,维持反应温度在 52~55℃,反应 0.5h,在室温下静置过夜。待析出大量白色结晶后,抽滤。用纯化处理过的无水乙醇洗涤滤饼三次,将滤饼在真空下干燥 2h,即得粗产品 8.5g(产率 69.8%)。产物经苯重结晶后分析结果如下:

熔点:120~122℃;

IR:(KBr)( $\text{cm}^{-1}$ )1635~1640(C=N,C=NOH),923(C=N),1390,1370( $\text{CH}_2\text{-C-CH}_2$ );

$^1\text{H NMR}$ :( $d_6$ -DMSO) $\delta$ :3.2(4H,s, $\text{CH}_2\text{N}$ ),1.9(12H,s, $\text{CH}_3\text{C}$ ),1.0(6H,s, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ );

元素分析:分子式  $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$  分子量=268;

计算值:C,58.2%,H,9.0%,N,20.9%;

实测值:C,58.3%,H,9.5%,N,20.4%。

### 1.1.2 4,8-二胺-3,6,6,9-四甲基十二烷-2,10-二酮二单酯(HM-PAO)的制备

取第一步反应的反应产物-薛夫氏碱(可以不纯化)(15.1g,56.3mmol)加到 122.5mL 无水甲醇中,置于 0℃的冰水浴中,电磁搅拌,再加入 KOH(0.47g,8.4mmol),在 0.5h 内分批慢慢加入  $\text{NaBH}_4$ (2.76g,73mmol)。反应物在 0℃的冰水浴上搅拌反应 2h,反应过程中通氮气保护。尔后滴加入去离子水 60.4mL,再继续反应两小时,减压蒸去甲醇,将反应液 PH 值调至 11,室温静置一夜,抽滤沉淀物,用少量去离子水洗涤滤饼,滤饼在真空下干燥两小时,得到未纯化的 HM-PAO 产物 8.2g(产率 54%)。用苯重结晶一次,可得 HM-PAO 混合物 2.9g(产率 35%),产物熔点 119.7~123.4℃。

### 1.1.3 纯 d,l-HM-PAO 的制备

将制得的 HM-PAO 混合物用乙酸乙酯分步重结晶,同时用  $^1\text{H NMR}$  高分辨氢谱测定分离过程中 d,l-和 meso-异构体的相对含量,即可保证分离出高纯度的 d,l-HM-P meso-NM-PAO 分析结果如下:

d,l-HM-PAO;

熔点:128.8~131.6℃

$^1\text{H NMR}$ :( $d_6$ -DMSO) $\delta$ :10.25(2H,s,OH),3.32(2H,s,NH),3.13(2H,q,CH),2.13(4H,q, $\text{CH}_2$ ),1.65(6H,s, $\text{CH}_3$ ),1.07(6H,d, $\text{CH}_3$ ),0.79(6H,s, $\text{CH}_3$ );

IR(KBr)( $\text{cm}^{-1}$ );3310(OH),3200-3100(OH,NH),1380,1370( $\text{CH}_2\text{-C-CH}_2$ );

元素分析:分子式  $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$  分子量=272;

计算值:C,57.3%,H,10.4%,N,20.6%;

实测值:C,57.41%,H,10.51%,N,20.59%;

质谱分析(MS); $m/e=272(\text{M}^+)$

meso-HM-PAO;

熔点:147.0~148.0℃。

### 1.2 无菌、无热原亚锡 d,l-HM-PAO 冻干药盒试剂的制备

用高精度天平准确称取 d,l-HM-PAO 和 NaCl,溶于经氮气饱和过的二次重蒸馏水中,在

55~60℃的水浴中加热溶解。同时配制浓度为  $8.86 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  的  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  溶液。在无菌室内,溶液经 0.22 $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤后,分装在 10mL 青霉素瓶中,使每瓶含 1mg d,l-HM-PAO, 4.5mg NaCl 和 8 $\mu\text{g}$   $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 。然后在氮气保护下置于冻干机中冻干,待制品完全干燥后充氮气至常压,密封,即得无菌、无热原的亚锡 d,l-HM-PAO 冻干药盒试剂。

### 1.3. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , l-HM-PAO 的制备

由于 d,l-HM-PAO 和 meso-HM-PAO 是非反映(立体)异构体,化学性质相近,可采用 meso-HM-PAO 与  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  络合,研究标记条件。

将新鲜的  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  洗脱液(370~1850MBq)加至含 meso-HM-PAO 1mg, NaCl, 5mg,  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  8 $\mu\text{g}$  的溶液中,并使溶液的总体积为 5mL,摇匀片刻,即形成  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -meso-HM-PAO 络合物。

用同样方法亦可制备非冻干品的  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO 络合物,共标记 33 次。

临床用无菌、无热原  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO 静脉注射液可以很方便地由冻干药盒试剂制得。首先用消毒棉签将冻干品瓶口进行消毒,再用无菌注射器抽取 5mL 无菌的新鲜  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  洗脱液,(放射性浓度为 0.37~3.7GBq/5mL)注入冻干品瓶内,顺势将瓶内空气抽出 5mL 使瓶内压力保持一个大气压,摇匀,使瓶内固体全部溶解,静 5min 后,即可得到放化纯度大于 80% 的  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO 静脉注射液。

### 1.4 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO 络合物的放化纯分析

采用色层层析法进行  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO 络合物的放化纯分析。将 2.5 $\mu\text{L}$  的样品点在层析纸(2 $\times$ 15cm)距下端 2cm 处,其中两条 Whatman SG81 硅胶纸分别浸入丁酮和 0.9% 生理盐水中展开,另一条 Whatman No. 1 纸在 50% 的乙腈水溶液中展开。层析条用上行法展开,点样后马上置于封闭的展开槽内,下端浸入液体 1cm 深。待展开 10cm 后,将纸条取出,吹干,用 EA-120 型放射性色层扫描仪测量其放射性分布。

### 1.5 小白鼠体内分布实验

选择体重 18~20g 雄性昆明科健康小白鼠 24 只,随机分为 8 组,每组 3 只。每只小鼠尾静脉注入  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO 74kBq/0.2mL。注入后分不同时间,在 2、5、20min、1、2、4、6、24h 时解剖取样,眼球摘除取血称重,颈椎拉断处死后取脑、心、肝、脾、胃、肾、膀胱样。各样品用 FH-1902 型高计数  $\gamma$  谱仪,在井型闪烁探头中测量其放射性。同时取与注入量等量的  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -d,l-HM-PAO 注射液作标准。

## 2 实验结果

### 2.1 配体 d,l-HM-PAO

HM-PAO 混和物经二步反应即可制得,用乙酸乙酯分步重结晶,可制备出高纯的 d,l-HM-PAO 配体。在配体的分离和提纯过程中,采用  $^1\text{H}$  NMR 技术是必要的<sup>[13]</sup>,从 d,l-HM-PAO 和 meso-HM-PAO 的结构式可以看出(见图 4)连在同一碳原子上的两个甲基(1),与不对称碳原子相连的甲基(2)以及  $\text{CH}_2\text{N}$  在两种异构体中所处的化学环境不同,就产生了以下一些特性(见图 5):(a)在 meso-异构体中,由于两个甲基(1)立体结构不对称,在  $^1\text{H}$  NMR 谱图上就产生了两个不同化学位移的单峰;(b)甲基(2)在高纯 d,l-和高纯 meso-的  $^1\text{H}$  NMR 谱图上都只有两个二重峰,而在 HM-PAO 混和物的  $^1\text{H}$  NMR 谱图上则有 4 个二重峰,说明两种异构



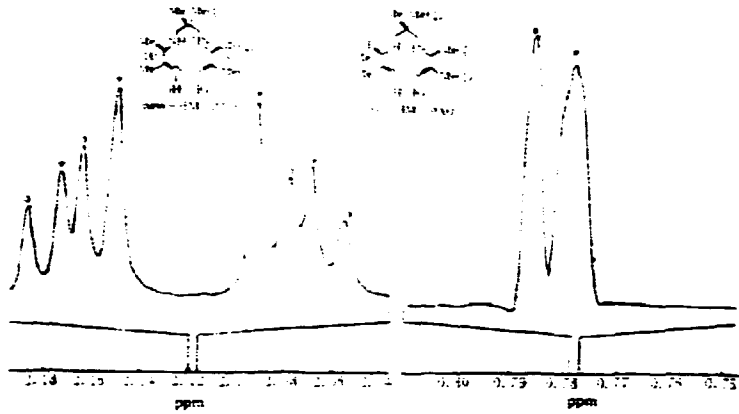


图4 HM-PAO混合物的局部放大<sup>1</sup>H NMR谱图

△—*meso*-HM-PAO; ○—*d,l*-HM-PAO

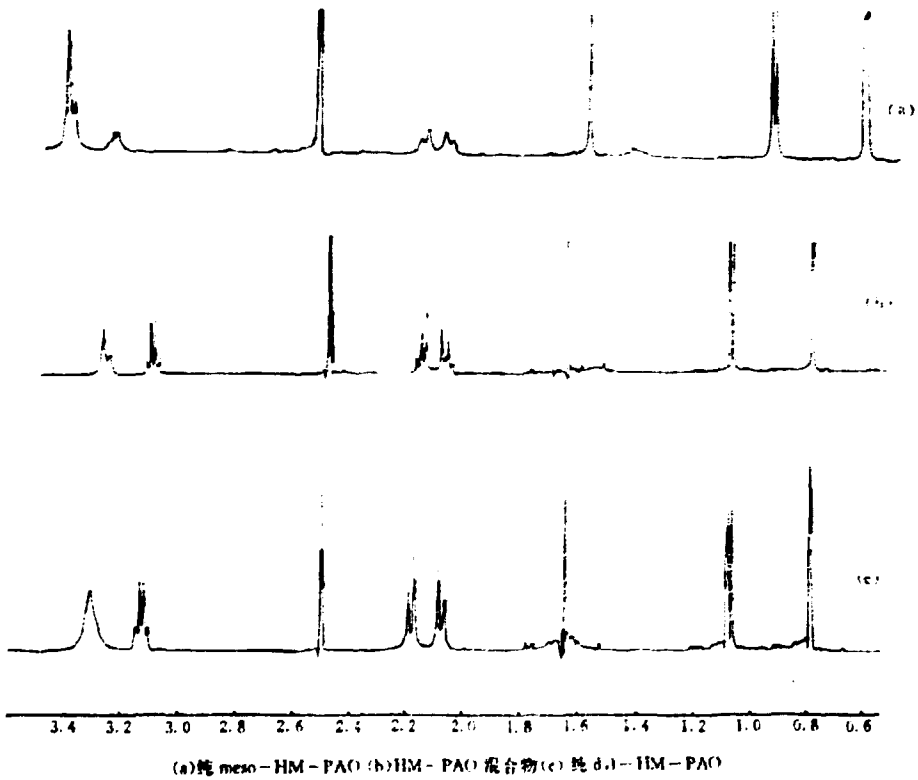


图5 HM-PAO在500兆高分辨率核磁共振谱仪上的<sup>1</sup>H NMR谱图

体的二重峰化学位移有差异;(c)CH<sub>2</sub>N中的氢反映在<sup>1</sup>H NMR谱图1(见图4),这两种异构

体 AB 系统四重峰化学位移的差别更加显而易见。两种异构体的化学位移( $\delta$ , ppm)和偶合常数的计算方法参照梁晓天编著的《核磁共振高分辨氢谱的解析和应用》一书。

表 1 HM-PAO 立体异构体的化学位移( $\delta$ , ppm)及偶合常数(J, Hz)

异构体	M <sub>a</sub> <sup>1</sup>	M <sub>a</sub> <sup>2</sup>	M <sub>b</sub> <sup>2</sup>	CH <sub>2</sub> N	CH <sub>2</sub> z
d,l	0.7880	1.0002, 1.0658	1.6469	2.17792, 0.739	3.1294
	s	d, J=6.71	s	ABq, J=11.56	q, J=6.77
meso	0.7804, 0.7775	1.0774, 1.0640	1.6470	2.1776, 2.0756	3.1423
	s	d, J=6.71	s	ABq, J=10.90	q, J=6.71

注: s—singlet, d—doublet, q—quartet

测量使用 500MHz 核磁共振谱仪, d<sub>6</sub>-DMSO 作溶剂, 温度 25℃。

d,l-HM-PAO 的纯度直接影响<sup>99m</sup>Tc-d,l-HM-PAO 络合物的显像性能。为证实经提纯后 d,l-HM-PAO 的纯度, 采用人工加入 meso-杂质的方法, 用 500MHz 高分辨率核磁共振谱仪进行分析。提纯后的纯 d,l-HM-PAO 中人为加入的 meso-HMPAO 杂质含量超过 0.94%(wt%) 时即可被检测出(见图 6), 而在纯 d,l-HM-PAO 的<sup>1</sup>H NMR 谱图上并未发现 meso-异构体杂质峰(见图 5c 及图 7)。因此可认为提纯后的 d,l-HM-PAO 的纯度大于 99%。

## 2.2 <sup>99m</sup>Tc-d,l-HM-PAO 络合物

标记好的<sup>99m</sup>Tc-d,l-HM-PAO 络合物溶液中, 可能存在以下四个放射性组分:

- (1) <sup>99m</sup>Tc-d,l-HM-PAO 亲脂性主产物;
- (2) <sup>99m</sup>Tc-d,l-HM-PAO 亲水性副产物;
- (3) 水解、还原<sup>99m</sup>Tc(IV);
- (4) 高价游离<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>。

其中亲脂性<sup>99m</sup>Tc-d,l-HM-PAO 主产物的百分含量即为络合物溶液的放化纯度。

非冻干品形成的<sup>99m</sup>Tc-d,l-HM-PAO 络合物的标记结果见表 2。

表 2 非冻干品<sup>99m</sup>Tc-d,l-HM-PAO 的标记结果

配体	meso-HM-PAO	d,l-HM-PAO
标记条件(MPa/Sml)	370~1850	370~2220
实验次数(n)	18	33
放化纯度(X%)	91.4	86.3
标准偏差(s)	3.0	3.4

临床医院用<sup>99m</sup>Tc-d,l-HM-PAO 注射液可方便地由冻干药盒试剂制得。取新鲜<sup>99m</sup>Tc 洗脱直接加至冻干药盒试剂中, 溶解, 即得无菌、无热原的注射液。不同生产批号的冻干药盒试剂标记结果见表 3。

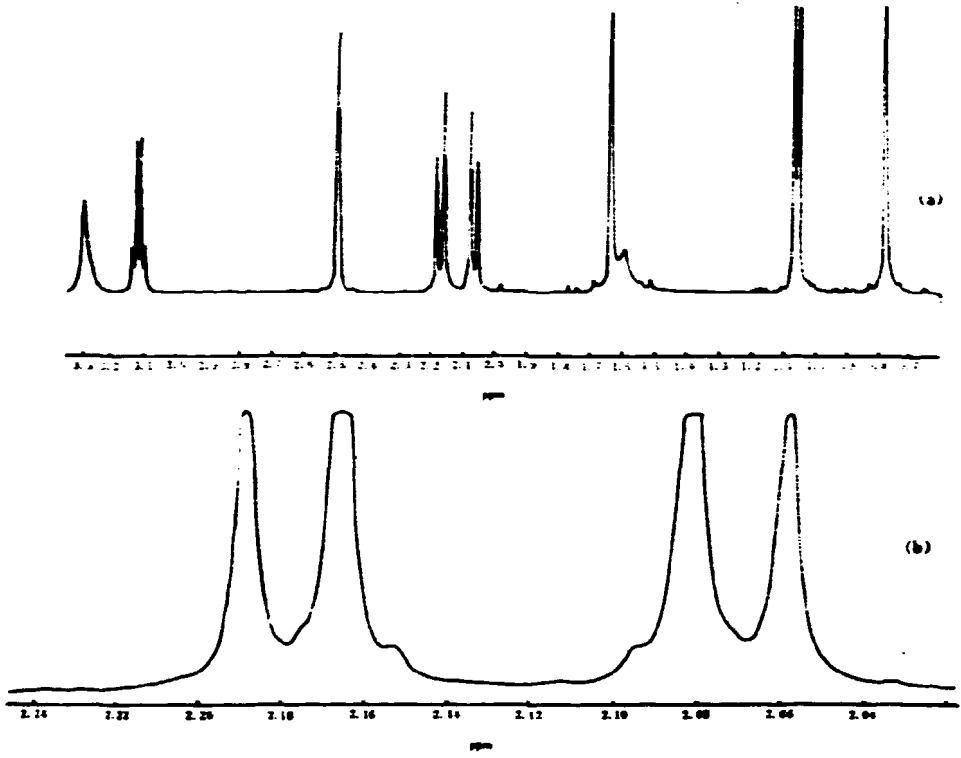


图6 纯d,l-HM-PAO人工加入meso-HM-PAO后的<sup>1</sup>H NMR谱图

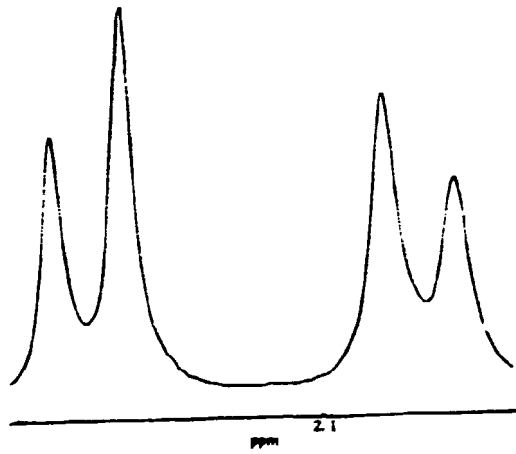


图7 纯d,l-HM-PAO的局部放大<sup>1</sup>H NMR谱图

表3 C, I-HM-PAO 冻干药盒试剂标记结果

冻干生产日	标记时间	标记条件 (MBq/5mL)	分析结果, %			
			主产物	副产物	还原、水解 T~c	高价 Tc
89.9.7	89.9.19	925~1110	86.8	5.6	6.6	1.2
89.9.7	89.9.19	925~1110	85.9	5.3	4.9	2.0
89.9.7	89.9.19	925~1110	81.9	10.8	5.5	1.8
89.10.27	89.10.28	518-592	85.7	5.1	4.2	5.0
89.10.27	89.10.28	518~592	86.5	6.2	3.3	4.0
89.10.27	89.10.28	518-592	84.0	7.5	4.5	4.0
89.9.7	89.10.30	579.4	85.6	5.3	7.5	1.6
89.11.1	89.11.2	703	84.3	10.2	5.0	0.5
89.11.1	89.11.2	703	84.4	9.0	4.6	2.0
89.9.7	89.11.5	1798.2	89.9	4.9	4.1	1.1
89.9.7	89.11.5	1850	87.5	5.9	5.7	0.9

2.3. <sup>99m</sup>Tc-d, I-HM-PAO 的放化纯分析

<sup>99m</sup>Tc-d, I-HM-PAO 的放化纯分析, 采用三个层析条的联合系统, 可分别给出络合物溶液中四种组分各自的百分含量。各层析条展开后放射性分布情况见图 8。溶液中四种组分在层析分析中的 R<sub>f</sub> 值见表 4。

表4 四种放射性组份在 TLC 分析中的 R<sub>f</sub> 值

组分	TLC 系统		
	a	b	c
<sup>99m</sup> Tc-主产物	0.9~1.0	0.8~1.0	0
<sup>99m</sup> Tc-副产物	0.9~1.0	0	0
<sup>99m</sup> Tc 还原水解产物	0	0	0
<sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub>	0.9~1.0	0.8~1.0	0.7~0.9

注: 系统 a: Whatman No. 1-50%乙醇水溶液

系统 b: Whatman SG81-丁酮

系统 c: Whatman SG81-0.9%生理盐水

根据各层析条的放射性分布, 通过计算可得出溶液中各个组分的含量:

(1) 还原、水解<sup>99m</sup>Tc(IV)的百分含量(%)=系统 3 中保留中原点的放射性百分含量(%);

(2) 游离<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>的百分含量(%)=系统 2 中在溶剂前沿的放射性百分含量(%)

(3) <sup>99m</sup>Tc-d, I-HM-PAO 副产物的百分含量(%)=系统 1 中近原点的放射性减去还原、水解 <sup>99m</sup>Tc(IV)的含量百分数(%)

(4) <sup>99m</sup>Tc-d, I-HM-PAO 主产物的百分含量(%)=系统 1 中近前沿的放射性减去游离的<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>的含量百分数(%)。

#### 2.4. 小白鼠体内分布实验

$^{99m}\text{Tc-d,l-MH-PAO}$  在小白鼠体内的分布实验结果见素 5。实验结果表明,鼠脑的最大摄取量为 2.24%I. D., 注入后 1h, 有 97% 的放射性存留在脑内, 到 24h 时, 仍有 72% 保留在脑内。而  $^{99m}\text{Tc-meso-HM-PAO}$  的小鼠体内分布实验表明, 鼠脑的摄取量为 1.93%I. D., 在脑内的滞留情况不如  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$ , 注入后 1h, 脑内存留量只有注入量的 44%, 到 24h 时, 仅有 25% 保留在脑内。

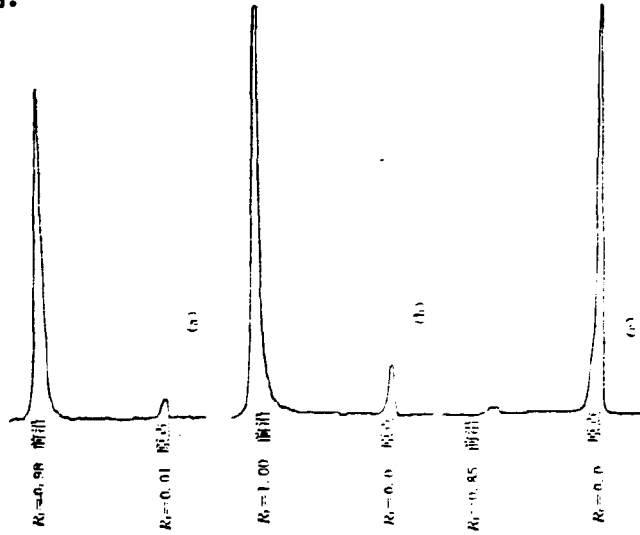
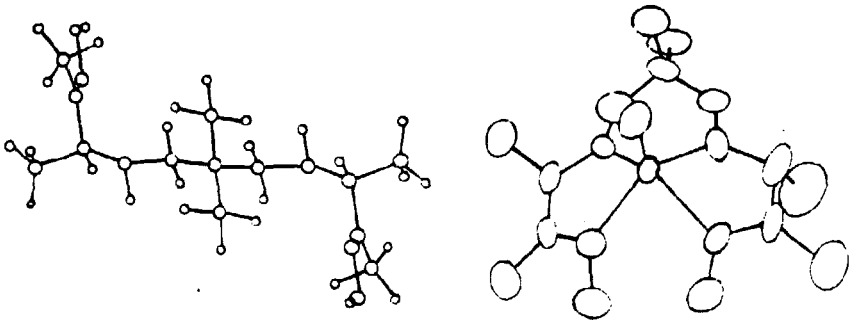


图 8  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  层析展开结果



(a) d,l-HM-PAO 的立体构形

(b)  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  的立体构形

图 9  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  的立体构形

表5  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  小白鼠体内分布实验结果%I.D.

脏器	注入后时间						
	2min	5min	20min	1h	2h	4h	24h
血	10.4±0.8	9.9±3.1	11.5±1.7	6.1±1.9	5.4±1.3	3.7±0.5	1.7±0.5
心脏	1.3±0.2	0.9±0.05	0.8±0.2	0.9±0.09	0.6±0.2	0.6±0.06	0.4±0.16
肝	10.4±2.3	10.3±2.1	8.6±1.9	5.4±2.5	7.9±3.6	6.7±1.1	1.4±0.20
脾	4.7±1.6	2.5±0.6	2.8±1.1	2.6±0.4	2.7±0.5	1.9±0.3	0.9±0.3
肺	0.76±0.36	0.24±0.06	0.13±0.03	0.41±0.10	0.24±0.06	0.22±0.04	0.17±0.1
胃	0.81±0.27	1.40±0.41	0.75±0.22	0.62±0.33	0.49±0.24	1.25±0.13	0.25±0.12
肾	3.58±0.96	3.48±0.19	2.48±0.40	2.81±1.05	2.1±0.30	1.64±0.51	0.67±0.22
胰(腺)	0.54±0.12	0.12±0.06	4.2±0.0	11.99±0.0	14.95±11.39	7.35±7.30	0.46±0.09
脑	2.02±0.29	2.06±0.37	2.24±0.33	2.18±0.23	2.13±0.20	1.65±0.17	1.61±0.18
骨	0.15±0.12	0.07±0.02	0.03±0.01	0.10±1.52	0.13±0.13	0.1±0.06	0.18±0.16

注：表中数据是三只小鼠平均值

### 3 讨 论

(1) 制备 HM-PAO, 采用易得的分析纯常用试剂为原料, 经两步反应即可得到 HM-PAO 的粗产品。反应条件温和, 不需要特殊的反应装置。第一步反应制得的薛夫氏碱可不经纯化, 直接进行下一步反应。由于配体 d,l-HM-PAO 的纯度, 直接影响  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  络合物的显像性能, 因此要求分离出高纯度的 d,l-HM-PAO 配体。采用高分辨率  $^1\text{H NMR}$  技术, 监测分离过程中 d,l 和 meso 异构体的相对含量, 为分离、纯化提供了方便, 亦保证了最终纯化后的 d,l-HM-PAO 纯度大于 99%。

(2) 络合物的放化纯分析采用层析色层方法。国外文献<sup>[14]</sup>介绍的分析方法使用的快速硅胶层析片(ITLC), 材料不易获得, 所以我们采用 Whatman SG-81 硅胶纸代替, 使用效果很好。

(3)  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  络合物的绝对构型已被证实(见图 9)<sup>[15]</sup>。该显像剂的显像机理属于自毁机理。中性、亲脂性的  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  能透过正常的血脑屏障, 进入脑内后, 进一步转化为极性的、亲水性的次级络合物, 后者表现在不能透过正常的血脑屏障, 从而固定停留在脑内。

(4) 药盒的冻干过程中, 采用在氮气气氛下冻干的技术, 以防止药盒中的亚锡在冻干过程中被氧化。经冷冻干燥制成的冻干品为白色、蓬松状固体, 无嗅无味, 易溶于水。冻干药盒试剂中的主要成份是 d,l-HM-PAO 配体和还原剂氯化亚锡。

(5) 配体经冷冻干燥后, 不会影响络合物的放化纯度。 $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  注射液标记后, 其放化纯度在 5~20min 时出现峰值。在标记条件下, 所得络合物的放化纯度在放置 5min 后, 均大于 80%, 且在 1h 内基本稳定, 可以满足临床的要求。表 6 列出放射性浓度对放化纯度和体外稳定性影响结果。

表 6  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  注射液的体外稳定性

时间, min	5	10	20	40	60	120	180
1. 1729GBq/4mL	90.3	91.4	94.5	94.3	94.0	93.2	89.0
1. 7834GBq/4mL	86.1	88.3	91.8	90.1	92.1	92.1	89.9
4. 736GBq/6mL	85.9	88.3	89.6	86.7	86.3	85.4	81.2
7. 881GBq/8mL	82.7	85.7	84.5	85.4	83.4	84.2	76.8

表 6 中数据说明:本品的放射性浓度指标定为 0.37~1.85GBq/5mL 比较稳妥[英国产品的放射性浓度为 0.37~1.11GBq/5mL]。

根据表 6 中所列放化纯随时间变化的结果,本品在 60min 内使用较稳妥。[英国产品要求 30min 内使用.]

(6) 为保证  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  注射液的质量,建议:

- (a) 所有的 Mo-Tc 发生器在使用前 24h 内曾淋洗过;
- (b) 发生器洗脱液最好在 2h 内使用;
- (c) 标记时所用  $^{99m}\text{Tc}$  洗脱液放射性总强度应小于 3700MBq;
- (d) 标记好的  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  注射液最好在 1h 内使用。

(7)  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  注射液可广泛用于脑疾病诊断和无创性人脑功能研究,在中风疾病中,大脑血流减少会导致在显像图上的光子减少区域。该显像剂也可用于研究瞬间局部缺血症状、偏头痛和脑瘤。已经证明,在病人脑中,在发作时,血灌注增加;在发作间歇期,血灌注减少。在 Alzheimer 疾病中,血灌注减少的特征区是存在的,这个特征区域为诊断鉴别痴呆病提供了基础。潘中允教授等指出<sup>[16]</sup>：“实验结果表明新的  $\gamma\text{CBF}$  显像剂  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  和本文介绍的 rCBF 定量测定方法也可以用于研究脑生理功能。 $^{99m}\text{Tc-(d,l)HM-PAOSPECT}$  rCBF 定量测定所需的设备条件较 PET、 $^{123}\text{I-IMP SPECT}$  和  $^{133}\text{XeSPECT}$  技术易得,因而有利于广泛应用,这对深入开展无创性人脑功能研究无疑具有重要意义”。最近国外学者用  $^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  来标记白血细胞和血小板<sup>[17,18]</sup>,用来作血栓和炎症显像。因此,该药品的发展前景是非常良好的。

附注:

- a. BUCHI 535 型熔点测定仪。
- b. AM500 MHz 核磁共振谱仪(TMS 作内标)。
- c. PE580B 型红外谱仪
- d. ZAB-2F 型质谱仪
- e. Carlo-Erba-1106 型元素分析仪
- f. METTLER AT-250 型十万分之一电子天平

### 致 谢

研究过程中得到中国医学科学院药物研究所元素分析组、质谱分析组、核磁分析组孔曼同志、中国原子能科学研究院姜延林景烈、齐秀珍范广普、刘英妹等同志、皮 53 室冻干机组、51 室裂变发生器组剂量组、同位素器材供应组等同志的大力协助,特此一并表示感谢!

## 参 考 文 献

- [1] Kung HF et al. Regional intracellular pH shift. A proposed new mechanism for radiopharmaceutical uptake in brain and other tissues. *J Nucl Med*, 1980, 21:147~152
- [2] Winchell HS et al. Development of  $^{123}\text{I}$ -labelled amines for brain studies. Localization of 1231 octophenylalkylamines in rat brain. *J Nucl Med*, 1980, 21:940~946
- [3] Tramposch KM et al. Radioiodine-labelled, N,N-dimethyl-N-2-hydroxy-3-alkyl-5-iodobenzyl)-1,3-propanodiamines for brain perfusion imaging. *J Med Chem*, 1983, 26:121~125
- [4] Vyth A et al. T1-20 diethaldihocarbamate, a possible radiopharmaceutical for brain imaging. *Pharm Weekblad Scientific Edn*, 1983, 5: 213~216
- [5] Lever SZ et al. The design, preparation and biodistribution of a technetium-99m triaminodithiol complex to assess regional cerebral blood flow. *J Nucl Med*, 1985, 26:1287~1294
- [6] Troutner DE et al. A neutral lipophilic complex of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  with a multidentate amine. *Int J Appl Radiat Isotop* 1984, 35: 467~470
- [7] Cumming SA et al. Development of technetium-99m regional blood flow agents based upon the propylene amine oxime ligand (PhAO). *Eur J Nucl Med*, 1985, 11:A107
- [8] Holmes RA et al. Cerebral uptake and retention of Tc-99m hexamethylpropylene amine oxime (Tc-99m HM-PAO). *Nucl Med Commun*, 1985, 6:443~447
- [9] E11 PJ et al. Regional cerebral blood flow mapping with a new Tc-99m labelled compound. *The Lancet* 1985, July 6:50~51
- [10] E11 PJ et al. A Tc-99m labelled radiotracer for the investigation of cerebral vascular disease. *Nucl Med Commun* 1985, 6: 437~441
- [11] Nowotnick DP et al. Development of a Tc-99m-labelled radiopharmaceutical for cerebral blood flow imaging. *Nucl Med Commun*, 1985, 6:499~506
- [12] Sharp PF et al. Technetium-99m HM-PAO stereoisomers as potential agents for imaging regional cerebral blood flow. *J Nucl Med*, 1986, 27:171-177
- [13] Jaffe IF, et al. Assessment of the purity of d, l-HM-PAO from diastereomeric mixtures using NMR techniques. *J Nucl Med*, 1989, 30:106~109
- [14] Neirinckx RD et al. Technetium-99m d, l-HM-PAO; A new radiopharmaceutical for SPECT imaging of regional cerebral blood perfusion. *J Nucl Med*, 1987, 28:191~202
- [15] Jurison S et al. Synthesis, characterization, and X-ray structural determinations of Technetium (V)-oxo-tetradentate amine oxime complexes. *Inorg Chem*, 1986, 25:543~549
- [16] 潘中允, 贾少微, 朱绍莉等,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -(d,l)HM-PAO CBF 和  $\gamma$ -CBF 定量测定在脑功能研究和临床应用中的价值, *中华核医学杂志*, 1990 年第 10 卷第 1 期 23
- [17] Dewanjee MK, The chemistry of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled radiopharmaceuticals. *Sem Nucl Med*, 1990, 20:5~27
- [18] Becker W et al. Tc-99m-HM-PAO labelled human platelets; in vitro and in vivo results. *Eur J Nucl Med*, 1989, 15: 296~301



**新型局部血流量灌注显像剂**

**$^{99m}\text{Tc-d,l-HM-PAO}$  的研制**

**原子能出版社出版**

**(北京 2108 信箱)**

**中国原子能工业公司翻译部排版**

**北京市海淀区三环快速印刷厂印刷**

**开本 787×1092 1/16 印张 1/2 字数 12 千字**

**1991 年 12 月北京第一版. 1991 年 12 月北京第一次印刷**

**ISBN7-5022-0562-4**

**TL 320**

# CHINA NUCLEAR SCIENCE & TECHNOLOGY REPORT



This report is subject to copyright. All rights are reserved. Submission of a report for publication implies the transfer of the exclusive publication right from the author(s) to the publisher. No part of this publication, except abstract, may be reproduced, stored in data banks or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior written permission of the publisher, China Nuclear Information Centre, and/or Atomic Energy Press. Violations fall under the prosecution act of the Copyright Law of China. The China Nuclear Information Centre and Atomic Energy Press do not accept any responsibility for loss or damage arising from the use of information contained in any of its reports or in any communication about its test or investigations.

ISBN7-5022-0562-4  
TL 320

P.O.Box 2103  
Beijing, China

China Nuclear Information Centre