

$[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 标记用双功能联接剂的制备、标记及性质

魏洪源, 罗顺忠, 宋宏涛, 刘国平, 熊晓玲

(中国工程物理研究院 核物理与化学研究所, 四川 绵阳 621900)

摘要:合成了几个具有代表性的适于 $[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 标记用的双功能联接剂分子,并对其羰基铼的标记条件进行了优化。结果表明:在最优条件下,上述标记物的放化纯均大于95%。放置实验和体外竞争实验表明:标记物皆有很好的稳定性,在48 h内,放化纯无明显改变。该类分子有望用于生物活性分子羰基铼标记工作中。

关键词:羰基铼;双功能联接剂;标记;稳定性

中图分类号:R817.8

文献标志码:A

文章编号:1000-6931(2008)S0-0077-06

Preparation of Several Bifunctional Chelating Agents for Precursor $[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ and Their Radiolabelation and Characteration

WEI Hong-yuan, LUO Shun-zhong, SONG Hong-tao, LIU Guo-ping, XIONG Xiao-ling
(Institute of Nuclear Physics and Chemistry, China Academy of Engineering Physics, Mianyang 621900, China)

Abstract: Several representative bifunctional chelating agents (BFCA) molecules which can coordinate with $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ were synthesized. On the NCA level, the ligands allow labelling yields $>95\%$ with $[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ under mild reaction conditions. Incubation of the corresponding ^{188}Re complexes in PBS buffer and human serum at $37\text{ }^\circ\text{C}$ reveals good stabilities. Decomposition product is main $^{188}\text{ReO}_4^-$. The routine kit-preparation of the precursor $[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ in combination with tailor-made ligand systems enables the organometallic labelling of biomolecules with unprecedented high specific activities.

Key words: rhenium tricarbonyl; bifunctional chelating agent; radiolabel; stability

$^{186,188}\text{Re}$ 具有优良的核性质,是放射性治疗药物的首选核素之一^[1-3]。常规标记方法多通过亚锡还原法制备其五价或三价配合物^[4-5]。

但亚锡的使用常会引起生物活性分子结构和电荷改变,降低生物特异性。还原产物可能存在多种组分或异构体,造成标记和纯化困难。铼

标记物还存在再氧化导致体内体外稳定性差的问题。

上述制备方法学上的缺陷限制了放射性核素铼在核医学上的应用。当前,一种全新的常规条件下制备一价 Re 化合物(金属有机化合物)的方法为该核素的生物学应用开辟了新途径。通过 $[M(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ ($M = \text{Tc}, \text{Re}$) 为前体^[6]的标记技术具有对生物分子活性改变更小,化学惰性高的优点,是一种有效的生物分子标记方法^[7-8]。

$[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 不直接作为药物使用,通过双功能偶联剂法(BFCA)进行特异性生物分子的偶联标记。标记药物的性质不仅决定于载体分子和核素本身的特性,BFCA 也对核药物体内体外行为起着重要作用。BFCA 分子的体积大小、配位齿数、表观电荷和亲水性/亲脂性对药物的体内行为均有显著贡献^[9-10]。

低价铈/铼有机金属标记技术是新兴的一种方法,对这一标记体系的 BFCA 分子的设计和规律性认识还需做大量研究工作。

因此,在以往工作基础上,本工作拟合成几个有代表性的 BFCA 分子,研究它们与羰基铼形成配合物的条件和初步的体外化学行为,为进一步应用该标记方法提供技术基础。

1 实验

1.1 主要仪器与试剂

DF-101B 集热式磁力搅拌器、DZF 型真空干燥箱,巩义市英峪予华仪器厂;FA2004 型电子分析天平,上海精科天平厂;FJ-2021 型 γ 免疫计数器,西安核仪器厂;超级恒温循环水浴,江苏省金坛市医疗仪器厂;LGJ0.5-II 冷冻干燥机,军事医学科学院实验仪器厂;¹⁸⁸W-¹⁸⁸Re 发生器,由上海科兴药业公司提供。

聚酰胺薄层板,浙江台州市路桥四甲生化塑料厂;Whatman 1[#] 层析纸,Whatman International Ltd.;CO, 99.95%,西南化工研究设计院;硼铵 ($\text{B}_2\text{H}_6 \cdot \text{THF}$), 90%, Sigma-Aldrich Co. Ltd.;薄层层析硅胶 HG/T2354-92,化学纯,青岛海洋化工有限公司;2-氯甲基吡啶盐酸盐,98%,ACROS ORGANICS;亚氨基二乙酸,四氢呋喃(THF),乙二醇二甲醚(DME),N,N-二甲基甲酰胺(DMF),碳酸钠等

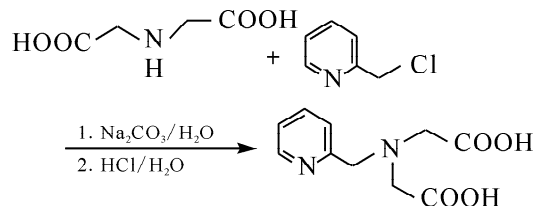
均为市售分析纯。

1.2 实验方法

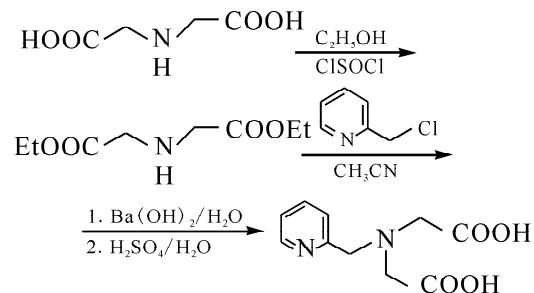
1.2.1 配体的合成

1.2.1.1 N-吡啶甲基亚氨基二乙酸(PADA)

1) 直接合成法。称取 2.23 g 2-氯甲基吡啶盐酸盐、1.81 g 亚氨基二乙酸及 2.81 g 无水碳酸钠粉末依次溶解于 20 mL 蒸馏水中,常温搅拌 48 h。乙酸乙酯萃洗后,水相用稀盐酸酸化至 $\text{pH} < 2$,减压蒸发至干。加入足量乙醇,过滤,适当浓缩后,加入等体积乙醚,低温静置得浅黄色固体约 1.80 g,产率 59.1%,熔点 130.5 °C(分解)。直接法合成路线如下:



2) 间接合成法。将 6.66 g 亚氨基二乙酸悬浮于 40 mL 绝对乙醇中,加入 2~3 滴 N,N-二甲基甲酰胺,充分搅拌下,滴加 9.20 mL 氯化亚砷。加毕,缓慢升温回流至固体完全溶解,继续反应约 20 h 后,将反应液蒸发浓缩,加入 20 mL 三氯甲烷,用 20% 碳酸钠溶液洗涤至中性,分液,水相用三氯甲烷萃取,有机相合并,旋蒸除去溶剂得粗品,然后减压蒸馏,得约 6.01 g 无色油状液体,沸点 137 °C/1.33 kPa,产率约 80.2%。间接法合成路线如下:



在装有机械搅拌、回流冷凝管和恒压滴液漏斗的三口烧瓶中,加入 1.64 g 2-氯甲基吡啶盐酸盐、2.65 g 无水碳酸钠粉末、1.90 g 亚氨基二乙酸二乙酯和 20 mL 无水乙腈,搅拌,回流过夜,冷却,滤去碳酸钠,滤液经减压蒸发得油状液体。加入适量 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 饱和溶液,室温下搅拌至油状液均转化为白色沉淀,抽滤,固体用蒸馏水充分浸泡、洗涤后,转移到适量水中,加热煮沸,加入适量稀硫酸,滤除沉淀,滤液冷

却过夜,得 1.37 g 淡黄色晶体,产率 61.2%。

1.2.1.2 S-吡啶甲基半胱氨酸(APPA) 将 1.66 g 2-氯甲基吡啶盐酸盐、1.40 g 半胱氨酸及 4.31 g 无水碳酸钠依次溶解于 15 mL 蒸馏水,常温搅拌 48 h。乙酸乙酯萃洗后,水相以稀盐酸酸化至 $\text{pH} < 2$,减压蒸发至干。加入足量乙醇,过滤,适当浓缩后加入等体积乙醚,低温静置得浅黄色固体约 2.42 g,产率 84.1%。

1.2.1.3 N,N-二吡啶甲基甘氨酸(DPAA) 将 1.60 g 2-氯甲基吡啶盐酸盐、0.81 g 甘氨酸及 4.52 g 无水碳酸钠粉末依次溶解在 20 mL 蒸馏水,常温搅拌 48 h。乙酸乙酯萃洗后,水相以稀盐酸酸化至 $\text{pH} < 2$,减压蒸发至干。加入足量乙醇,过滤,适当浓缩后加入等体积乙醚,低温静置得浅黄色固体约 0.80 g,产率 63.5%。

1.2.1.4 N-吡啶甲基组氨酸(HIPPA) 1.58 g 2-氯甲基吡啶盐酸盐、1.60 g 亚氨基二乙酸及 4.09 g 无水碳酸钠粉末依次溶解在 20 mL 蒸馏水,常温搅拌 48 h。乙酸乙酯萃洗后,水相以稀盐酸酸化至 $\text{pH} < 2$,减压蒸发至干。加入足量乙醇,过滤,适当浓缩后加入等体积乙醚,低温静置得浅黄色固体约 1.31 g,产率 55.5%。

1.2.2 $[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 制备 将 8~10 mg 硼铵装入一西林瓶中,抽真空后充入 CO,压好铝盖密封备用;用注射器注入 900 μL 高铼酸淋洗液,于 75 $^\circ\text{C}$ 水浴反应 20 min,制备 $[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 中间体;标记配体前,经自制小柱分离纯化。放化纯用 TLC 方法测定。

1.2.3 $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3\text{L}$ 制备 先依照各自实验范围内多因素多水平表头及正交实验方案设计,将配体质量折换为配体溶液体积, pH 值以加入一定体积的 PBS 来调节,按照冻干品配比(表 1)将二者混合后,制成冻干品;然后,再按照正交实验及方案设计进行实验(表 2),标记反应及相关测试完成后,再次测定核准其 pH 值。

1.2.4 $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3\text{L}$ 的体外稳定性 取各正交实验测得放化纯(RCP)值最高的标记液,在室温下分别在敞口和入血清中放置,测定 0.5、1、5、24、48 h 的 RCP 值变化。

1.2.5 $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3\text{L}$ 的体外竞争实验 在

表 1 冻干品配比

编号	PBS/ μL	配体量/ μL	编号	PBS/ μL	配体量/ μL
1,2	0	200	9,10	500	200
3,4	0	400	11,12	500	400
5,6	300	400	13,14	700	400
7,8	300	200	15,16	700	200

表 2 $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3\text{L}$ 制备实验方案表头设计Table 2 Design for table-head of preparation of $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3\text{L}$

水平	影响因素				
	pH	温度/ $^\circ\text{C}$	时间/min	配体量/mg	中间体/mL
1	1.7	室温	10	1	0.2
2	5.4	50	20	2	0.4
3	6.7	85	30		
4	7.2	75	40		

5 mL 反应管中加入 0.2 mL 相应的制备好的配合物,加入 0.8 mL 半胱氨酸 PBS 溶液(0.02 mol/L)。该体系在 37 $^\circ\text{C}$ 水浴保温 12 h,并于 30 min、1 h、2 h、6 h、12 h 用 TLC 分析其 RCP。将半胱氨酸溶液换作相同浓度组胺酸、谷胱甘肽的 PBS 溶液实验,方法同上。

2 结果与讨论

2.1 PADA、APPA、DPAA、HIPPA 的合成和结构表征

与铼配位的分子所含的常见配位原子为 O、S、N、P,其配位能力递增顺序为 $\text{O} < \text{S} < \text{N} < \text{P}$ 。以前的研究表明,配体分子中芳香性氮原子配位能力优于非芳香性氮原子。因此,文献[11-13]以 2-氯甲基吡啶盐酸盐和常见氨基酸为起始原料,经简易方法,合成了可作为 $\text{N}_x\text{S}(\text{O})_y$ 类 BFCA 的吡啶氨基酸衍生物 PADA、APPA、DPAA、HIPPA 4 个配体,分子结构中均含有多个可提供配位的氮氧原子,且其中至少有 1 个氮来自于不饱和杂环,故有望作为理想的 BFCA 分子与适宜的中心核实现偶联。

合成方案的机理主要是利用卤代烃的氨解化反应。经水相合成,打破了以往此类反应多选用非质子性溶剂的局限,不仅产率较高,且反

应速度快、后处理简单;以水为溶剂,一定程度上节约了成本,且更安全易控。另外,卤代烃的氨解属于 N-烷基化反应,其间伴随有 HCl 生成,为避免底物与 HCl 反应生成盐而失去亲核能力,需用碱作质子吸收剂;由于产物是叔胺,故采用三乙胺、吡啶等常用的叔胺作质子吸收剂时,存在竞争,不利于反应的进行,反应需时长,且产品分离纯化困难;以直接加入的碳酸钠或碳酸钾粉末作质子吸收剂,不仅能迅速作用掉合成反应中生成的 HCl,利于反应进行,且产物为水溶性无机物,便于分离。紫外-可见、红外、氢核磁共振测试分析结果与预设各化合物均有较好的归属关系,且这些化合物的谱图数据只在个别文献中有相关报道。

2.2 $[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 标记前体制备

不同展开体系的条件和不同物质的 R_f 值列于表 3。 $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 的放化纯由体系 1 测定,使用展开体系 2 和 3 为辅助体系以监测 $^{188}\text{ReO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ 和 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 。结果表明:该方法制得的 $fac\text{-}[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 的放化纯约为 85%。通过自制小柱分离纯化后,放化纯可提高到 95%,适于下一步的标记使用。制备的 $fac\text{-}[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 前体在 3 h 内保持稳定,3 h 后可观察到明显的分解情况,体系中的 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 组分含量增加。

2.3 $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3\text{L}$ 制备

文献[14-15]中关于羰基铼配合物的研究,采用 $L_{16}(4^3 \times 2^6)$ 正交实验,研究考察体系 pH 值(A)、反应温度(B)、时间(C)、配体量(D)等因素对配合物 RCP 值的影响,得到各配合物的较优制备条件。所用配体为氨基酸或其衍生物,强酸性环境下,氨基基团会形成季铵盐形式,影响与中心核的键联,碱性环境则会影

响,因此,PBS 的 pH 值设为中性略偏碱性,经由中间体混合调节后,反应体系的 pH 值应落在接近中性的酸度范围内;鉴于此,正交实验中将体系 pH 值与配体间的交互作用等作为影响因素介入。正交方案及数据处理计算省略。

同时使用展开体系 4、5 和 TLC 测定配合物 $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3\text{L}$ 的 RCP 值。同样,以 TLC 体系 2 和 3 为辅助体系,以监测 $^{188}\text{ReO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ 和 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 。标记条件和结果如下。

1) $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{PADA})$

RCP 值随体系 pH 值增大而增大的变化趋势很明显;RCP 值随温度增高迅速增大,50 °C 时达最大;RCP 值随反应时间增大,30 min 时基本趋于平缓。相对于文献中 IDA 标记结果相近,差别在于 $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{PADA})$ 的 RCP 值能在 50 °C 的较低温度下达 90% 以上,这是因为该配体分子结构中多了 1 个吡啶环,而该不饱和杂环上的 N 更易与羰基铼核发生配位偶联。

最佳标记条件为:pH=6.7、温度 50 °C、反应时间 40 min、配体 1 mg、中间体 0.2 mL, RCP 值为 0.92%。

观察比较各因素所对应的 R (极差)值,pH 所对应的最大,其次为反应时间和温度,中间体的加入量也有一定影响,其余因素的影响则可忽略。

2) $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{APPA})$

RCP 值随体系 pH 值增大而增大的变化趋势不很明显;温度增高,RCP 值迅速增大,75 °C 时达最大,随后又显著下降,可能是由于分子中甲基吡啶与 S 的结合部位不够稳定,这一点也显示在 B 和 D 因素的交互作用较为明显上;反应时间的影响很小。 $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{APPA})$

表 3 不同展开体系 R_f 结果

Table 3 Result of TLC in various system

编号	展开体系		R_f			
	支撑体	展开剂	$^{188}\text{ReO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	$^{188}\text{ReO}_4^-$	$[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$	$^{188}\text{Re}(\text{CO})_3\text{L}$
1	聚酰胺薄膜	V(甲醇):V(乙腈)=1:2	0.0~0.1	0.0~0.1	0.6~0.7	
2	Whaterman 1 [#]	生理盐水	0.0~0.1	0.8~0.9	0.8~0.9	
3	Whaterman 1 [#]	丙酮	0.0~0.1	0.8~0.9	0.0~0.1	
4	Whaterman 1 [#]	V(MeOH):V(2 mol/L HCl)=99:1	0.0~0.1	0.8~0.9	0.7~0.9	0.5~0.6
5	Whaterman 1 [#]	PBS,pH=7.2~7.4	0.0~0.1	0.9~1.0	0.8	1.0

的 RCP 值能于酸度较低的氛围中达 90% 以上,这与 APPA 分子结构中具有 S 和位于不饱和和杂环(吡啶)上的 N 等更易与羰基铼核发生配位偶联的配位原子有关。

最佳实验条件为: pH=5.8、温度 75 °C、反应时间 40 min、配体 1 mg、中间体 0.4 mL, RCP 值 93.0%, 观察比较各因素对应的 R 值, 温度所对应最大, 其次为体系 pH 值和中间体, 温度与配体间的交互作用也有一定影响。

3) $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{DPAA})$

RCP 值随体系 pH 值增大而增大, 体系 pH 值达 5.8 时即达极大, 这说明 $\text{pH} \geq 5.8$ 时, DPAA 分子中 NH 等基团形成对应铼盐的趋势已经削弱, 但体系 pH 值的影响依然存在, 这可从 AD 交互作用的影响上显示出来; RCP 值在 75 °C 时达到最大; 时间的影响不甚显著, 适宜条件下反应 10 min, RCP 值即可大于 90%, 归因于配体分子中含有较多不饱和杂环(吡啶环)氮原子。

此外, DPAA 的分子结构虽然紧凑, 但由于含有两个吡啶环, 分子量较大, 致使显现出 D 因素(配体量)的影响。

pH=5.8、温度 75 °C、反应时间 10 min、配体 2 mg、中间体 0.2 mL 为最佳实验条件; 观察比较各因素所对应的 R 值, 体系 pH 值所对应的最大, 其次为温度, 其余因素的影响则可忽略。

4) $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{HIPPA})$

体系 pH 值、温度及反应时间的影响趋势与 $^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{DPAA})$ 类似。原因为二者配体分子结构相似, 均含有较多不饱和杂环(吡啶环、咪唑环)氮原子。pH=5.8、温度 75 °C、反应时间 10 min、配体 2 mg、中间体 0.2 mL 为最佳实验条件; 观察比较各因素对应的 R 值, 体系 pH 值所对应最大, 其次为温度, AD 的交互作用以及中间体的加入体积也有一定的影响, 其余因素的影响则可忽略。

5) 配合物的体外稳定性测定

各配合物在室温下放置 24 h 内, RCP 值几乎未发生变化, 表明在室温条件下, 这些配合物稳定性均比较好; 与文献[16]制备的相应 $\text{Re}(\text{V})-\text{O}-$ 配合物的稳定性实验结果相比可知, 羰基铼配位体系均比对应的 $\text{Re}(\text{V})-\text{O}-$

配合物体系稳定。

6) 配合物的体外稳定性测定

选择了生物体内有代表性的竞争配体半胱氨酸、组胺酸及谷胱甘肽用作配合物的竞争稳定性实验, 结果表明, 在有竞争配体存在的情况下, 配合物的稳定性较好, 放化纯在 12 h 内无明显下降, 变化不超过 15%。可预期配合物稳定性高。

3 结论

本工作合成了几个具有代表性的适于 $[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 标记用的 BFCA 分子, 并对其羰基铼的标记条件进行了优化。在较温和条件下, pH 值为 5.8~7.2, 上述标记物的放化纯均大于 90%, 获得的标记物均有很好的稳定性, 在 48 h 内放化纯无明显改变。该类 BFCA 分子有望用于放射性标记生物活性分子的工作中。

参考文献:

- [1] 马崇智. 放射性同位素手册[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 182-210.
- [2] JEONG J M, CHUNG J K. Therapy with ^{188}Re -labeled radiopharmaceuticals[J]. Cancer Biotherapy and Radipharm, 2003, 18(5): 707-717.
- [3] ZHANG X L, ZHANG C F, LI J L, et al. Progress on studying ^{188}Re labeled peptide[J]. Nucl Technol, 2002, 25(7): 587-592.
- [4] 李永键, 孙祺薰. 放射性药物与标记化合物[M]. 北京: 科学出版社, 1996: 96-138.
- [5] MELENDEZ-ALAFORT L, FERRO-FLORES G, ARTEAGA-MURPHY C, et al. Labeling peptides with rhenium-188[J]. Int J Phar, 1999, 182: 165-172.
- [6] SOGBEIN O O, MERDY P, MOREL P, et al. Valliant preparation of $\text{Re}(\text{I})-$ and $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})-$ metallocarboranes in water under weakly basic reaction conditions[J]. Inorg Chem, 2004, 43: 3 032-3 034.
- [7] SCHIBLI R, SCHUBIGER P A. Current use and future potential of organometallic radiopharmaceuticals[J]. Eur J Nucl Med, 2002, 29(11): 1 529-1 542.
- [8] GERARD J, SIDEN T, ANNE V, et al. New paradigms for synthetic pathways inspired by

- bioorganometallic chemistry [J]. *J Organomet Chem*, 2000, 600: 23-36.
- [9] BAIDOO K E, KINGHT L C, ROMANO J E, et al. Synthesis and evaluation of new biomolecules by the technetium tricarbonyl technology [J]. *J Label Compd Radiopharm*, 2001, 44 (Suppl.): S66-S68.
- [10] 王东琪, 褚泰伟, 王祥云, 等. $[\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 及其几个衍生物的结构和成键[J]. *核化学与放射化学*, 2000, 22(4): 207-213.
WANG Dongqi, CHU Taiwei, WANG Xiangyun, et al. The structure and bonding of $[\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ and some of its derivatives [J]. *J Nucl Radiochem*, 2000, 22(4): 207-213 (in Chinese).
- [11] BANERJEE S R, LEVADALA M K, LAZAROVA N, et al. Bifunctional single amino acid chelates for labeling of biomolecules with the $\{\text{Tc}(\text{CO})_3\}^+$ and $\{\text{Re}(\text{CO})_3\}^+$ cores [J]. *Inorg Chem*, 2002, 41: 6 417-6 419.
- [12] 魏俊发, 陈默, 牛小玲, 等. N-(2-甲氧基-5-甲酰基苄基)亚氨基二乙酸的合成及表征[J]. *陕西师范大学学报: 自然科学版*, 2002, 30(3): 79-81.
WEI Junfa, CHEN Mo, NIU Xiaoling, et al. Synthesis and characterization of N-(2-methoxyl-5-formylbenzyl) iminodiacetic acid [J]. *Journal of Shanxi Normal University: Natural Science Edition*, 2002, 30(3): 79-81 (in Chinese).
- [13] 谢怡, 陈默, 高根之, 等. N-(4-甲氧基-3-甲酰基苄基)亚氨基二乙酸的合成及表征[J]. *曲阜师范大学学报*, 2003, 29(4): 82-84.
XIE Yi, CHEN Mo, GAO Genzhi, et al. Synthesis and characterization of N-(4-methoxyl-3-formylbenzyl) iminodiacetic acid [J]. *Journal of Qufu Normal University*, 2003, 29(4): 82-84 (in Chinese).
- [14] SCHIBLI R, BELLA R L, ALBERTO R, et al. Influence of the denticity of ligand systems on the in vitro and in vivo behavior of $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$ -tricarbonyl complexes [J]. *Bioconj Chem*, 2000, 11: 345-351.
- [15] 张小波, 朱霖, 赵学颖, 等. $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^+$ 标记的新双功能联接剂的研究 [J]. *核化学与放射化学*, 2004, 26(1): 12-14.
ZHANG Xiaobo, ZHU Lin, ZHAO Xueying, et al. Research of novel bifunctional chelating agents for the Tc-tricarbonyls precursor $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^+$ [J]. *J Nucl Radiochem*, 2004, 26(1): 12-14 (in Chinese).
- [16] 宋宏涛, 魏洪源, 罗顺忠, 等. N_2S_2 类双功能联接剂的合成研究 [J]. *西南科技大学学报: 自然科学版*, 2006, 21(3): 27-30.
SONG Hongtao, WEI Hongyuan, LUO Shunzhong, et al. Study on synthesis of the precursor of N_2S_2 series bifunctional coupling agent [J]. *Journal of Southwest University of Science and Technology: Natural Science Edition*, 2006, 21(3): 27-30 (in Chinese).