

· 研究论文 ·

## 一种新型葡萄糖衍生物PET分子探针的制备和表征

杨小凤<sup>1,2</sup>, 吕高超<sup>2</sup>, 蔡舒玥<sup>2</sup>, 谢 俊<sup>2</sup>, 林建国<sup>2</sup>, 谢敏浩<sup>1,2\*</sup>

(1. 江南大学 化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江苏省原子医学研究所 国家卫生健康委员会核医学重点实验室 江苏省分子核医学重点实验室, 江苏 无锡 214063)

**摘要:** 葡萄糖是生物体内关键的能量来源, 其独特的生物学性质使其在药物开发领域得到广泛应用。研究表明, 肿瘤细胞通常依赖糖酵解途径来满足其能量需求。因此, 利用这一特性研发新型葡萄糖衍生物正电子发射计算机断层扫描(PET)分子探针, 对提高恶性肿瘤的成像效果至关重要。以 2-叠氮-2-脱氧-D-葡萄糖为主要原料, 通过点击化学反应与双炔丙基甘氨酸偶联的骨架相连, 进一步用苄胺进行修饰得到葡萄糖衍生物中间体, 再引入金属螯合剂NOTA合成标记前体NOTA-DDG, 最后利用正电子核素<sup>68</sup>Ga标记, 成功获得分子探针 [<sup>68</sup>Ga]Ga-NOTA-DDG。通过放射性高效液相色谱法验证其放射化学产率高于98%, 并将其与PBS和小鼠血清共孵育2 h后, 其稳定性仍然保持99%以上。通过细胞毒性实验(MTT)研究进一步表明NOTA-DDG具有良好的生物相容性。因此, 本研究构建的葡萄糖衍生物PET探针 [<sup>68</sup>Ga]Ga-NOTA-DDG 为后续开展体内外研究及肿瘤靶向性评价奠定了重要基础。

**关键词:** 葡萄糖衍生物; 点击化学反应; 分子探针; <sup>68</sup>Ga标记; 制备; 表征

中图分类号: R730.44

文献标志码: A

DOI: 10.15952/j.cnki.cjsc.1005-1511.20250040

## Preparation and Characterization of A Novel Glucose-derived PET Molecular Probe

YANG Xiaofeng<sup>1,2</sup>, LV Gaochao<sup>2</sup>, CAI Shuyue<sup>2</sup>, XIE Quan<sup>2</sup>,  
LIN Jianguo<sup>2</sup>, XIE Minhao<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2. Jiangsu Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, NHC Key Laboratory of Nuclear Medicine, Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Wuxi 214063, China)

**Abstract:** Glucose is a pivotal energy source in biological systems, and its unique biochemical properties have enabled its widespread application in drug development. Studies have demonstrated that tumor cells typically rely on the glycolytic pathway to meet their energy demands. Therefore, developing new glucose-derived PET molecular probes based on this characteristic is crucial for enhancing the imaging efficacy of malignant tumors. Using 2-azido-2-deoxy-D-glucose as the primary starting material, a glucose derivative intermediate was synthesized *via* click chemistry to conjugate a biopropargyl glycine-coupled scaffold, followed by benzylamine modification. Subsequently, the metal chelator NOTA was introduced to prepare the labeling precursor NOTA-DDG, which was successfully radiolabeled with the positron-emitting nuclide <sup>68</sup>Ga to obtain the molecular probe [<sup>68</sup>Ga]Ga-NOTA-DDG. Radiochemical yield analysis *via* radioactive high-performance liquid chromatography (radio-HPLC) confirmed a labeling efficiency exceeding 98%. Stability assessment revealed that the radiochemical purity of the

收稿日期: 2025-03-06; 修订日期: 2025-04-26。

基金项目: 江苏省卫健委重点项目(ZD2022036)。

第一作者: 杨小凤(1998-), 女, 汉族, 河南驻马店人, 硕士研究生, 主要从事放射性药物合成方向的研究, E-mail: iyangxf@163.com。

通讯作者: 谢敏浩, 博士, 研究员, E-mail: xieminhao@jsinm.org。

probe remained above 99% after 2 hours of incubation in PBS and mouse serum. Cytotoxicity assays (MTT) further demonstrated the good biocompatibility of **NOTA-DDG**. Therefore, the PET probe [ $^{68}\text{Ga}$ ]**Ga-NOTA-DDG** constructed in this study established a significant foundation for subsequent *in vitro* and *in vivo* studies as well as for tumor-targeting assessments.

**Keywords:** glucose derivative; click chemistry; molecular probe;  $^{68}\text{Ga}$  labeling; preparation; characterization

近年来,分子成像技术在肿瘤诊断领域取得了显著进展,特别是在各类成像方式中,应用不同的显像剂对病灶实现特异性可视化具有重要意义。正电子发射计算机断层扫描(PET)作为一种先进的诊断工具,通过检测正电子发射的放射性核素在生物体内的分布,实现病变的多层面可视化。这一技术可提供高分辨率图像,极大地提高了肿瘤诊断的准确性,已成为肿瘤诊断的重要技术手段之一<sup>[1]</sup>。

研究表明,大多数肿瘤细胞中的葡萄糖转运蛋白(GLUTs)的过度表达以及 Warburg 效应,极大地推动了葡萄糖显像剂的广泛研究<sup>[2-3]</sup>。其中,2- $^{18}\text{F}$ 氟-2-脱氧-D-葡萄糖( $^{18}\text{F}$ -FDG)作为目前最成功的广谱肿瘤 PET 显像剂,已在临床诊断中得到广泛应用<sup>[4-5]</sup>。然而, $^{18}\text{F}$ -FDG 在临床应用中仍面临诸多限制。例如,合成过程中的放射性核素氟-18( $^{18}\text{F}$ )依赖于回旋加速器生产,且 $^{18}\text{F}$ -FDG 的生产过程涉及共沸蒸馏、亲核取代、脱保护和纯化等多个复杂步骤,使得整个过程相对复杂且耗时,从而限制了其在多数医院的普及应用<sup>[4-7]</sup>。基于这些限制因素,选择简便易得的放射性核素并开发新型葡萄糖衍生物 PET 分子探针至关重要。

镓-68( $^{68}\text{Ga}$ )作为一种具有较大潜力的放射性同位素,由 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 发生器通过盐酸洗脱即可获得。此外,使用 $^{68}\text{Ga}$ 对化合物进行标记的过程较为便捷<sup>[8-12]</sup>。因此,开发 $^{68}\text{Ga}$ 标记的葡萄糖衍生物分子探针具有重要的临床价值。先前开发的 $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-DG 和 $^{68}\text{Ga}$ -ECG 两种葡萄糖衍生物 PET 分子探针有力地推动了 $^{68}\text{Ga}$ 标记的葡萄糖衍生物在肿瘤诊断药物领域的进展<sup>[13-14]</sup>。然而,肺或肝脏对这些放射性标记探针的摄取高于肿瘤,具有一定的局限性。因此减少药物在正常组织中的摄取仍需进一步探索与优化。

研究表明<sup>[15-17]</sup>,放射性标记的多聚体 RGD 肽类似物在肿瘤细胞和动物模型中显示出比单体 RGD 肽类似物更高的肿瘤摄取能力以及更优异的

生物学特性。这些研究提示,放射性标记的二聚葡萄糖衍生物可能在增强肿瘤靶向效果方面具有潜在的应用优势。

因此,本文开发了一种具有两个葡萄糖靶向配体的肿瘤 PET 分子探针。在合成过程中,以 2-叠氮-2-脱氧-D-葡萄糖为原料,通过点击化学反应与设计的双炔氨基酸骨架偶联,获得含两个葡萄糖靶向基团的中间体以增强肿瘤靶向能力。随后引入苄胺基团提高其亲脂性,并引入金属螯合剂 NOTA,制备出标记前体化合物 **NOTA-DDG**(图 1)。通过 $^{68}\text{Ga}$ 标记后得到探针 [ $^{68}\text{Ga}$ ]**Ga-NOTA-DDG**,并对其放射性标记产率、纯度、摩尔活度、体外稳定性、脂水分配系数及细胞毒性进行评估。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

ZMD4000 LC/MS 型电喷雾电离质谱[MS (ESI),美国 Water 公司]; 1525 型高效液相色谱仪(HPLC,美国 Water 公司); 2545 型半制备高效液相色谱仪(Semi-Prep HPLC,美国 Water 公司); Radio-HPLC 型放射性高效液相色谱分析仪(美国 Waters 公司); Bruker 400 MHz 型核磁共振仪(美国 Bruker 公司); MD/M5e 型多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司); IGG-100 型 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 发生器(德国 Eckert & Ziegler AG 公司); Freezone6L 型真空冷冻干燥机(美国 Thermo Scientific 公司)。

2-叠氮-2-脱氧-D-葡萄糖(2-Azido-2-deoxy-D-glucose)、苄胺和苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯(HBTU)购自麦克林有限公司;(S)-炔丙基甘氨酸购自阿拉丁有限公司;三(3-羟丙基三氨基甲基)胺(THPTA)购自毕得有限公司;NOTA 活性脂购自西安齐岳生物科技有限公司;N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)、五水硫酸铜( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )、L-抗坏血酸钠(Na-L-ascorbate)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、乙腈(HPLC 级)、三氟乙酸(TFA)购自安耐吉有限公司;二氯甲烷(DCM)、

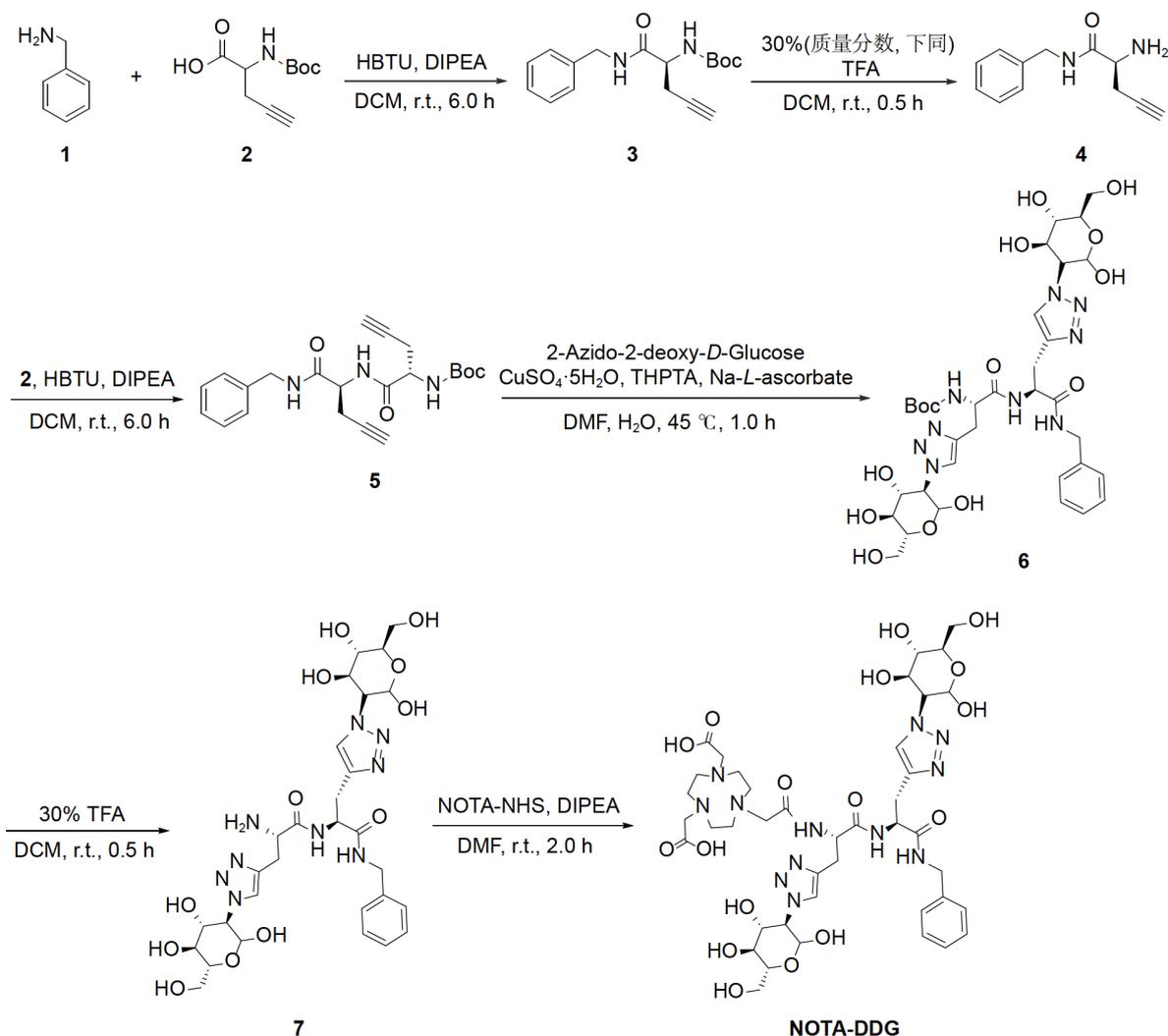


图1 前体NOTA-DDG的制备路线

Figure 1 Preparation route of precursor NOTA-DDG

正辛醇、正己烷、乙酸乙酯购自国药集团化学试剂有限公司,以上所用商业溶剂均为分析纯;小鼠血清购自南京森贝伽生物科技有限公司。

## 1.2 制备

### (1) 化合物3的制备

将(*S*)-*N*-BOC-炔丙基甘氨酸(0.60 g, 2.80 mmol)、苄胺(0.30 g, 2.80 mmol)、苯并三氮唑-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯(1.22 g, 3.20 mmol)、*N,N*-二异丙基乙胺(1.81 g, 14.00 mmol)和二氯甲烷(5 mL)加入到25 mL的反应瓶中,在室温(25 °C)下反应6.0 h。反应结束后旋干溶剂,硅胶柱色谱纯化(洗脱剂:正己烷:乙酸乙酯=1:1, *V:V*),得到化合物3,白色固体0.81 g,产率90%;  $^1\text{H NMR}$ (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$ : 7.29~7.21(m, 5H), 6.98~6.87(m, 1H), 5.44(d,  $J=7.8$  Hz, 1H), 4.41(s, 1H), 4.40(s, 1H), 2.74(ddd,  $J=16.9$  Hz, 5.7 Hz, 2.8 Hz, 1H), 2.64~2.56(m, 1H), 2.02(t,  $J=2.6$  Hz, 1H), 1.36(s, 9H);  $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 170.35, 155.50, 137.79, 128.64, 128.61, 127.63, 127.51, 80.56, 79.50, 71.69, 52.97, 43.54, 28.25, 22.58; MS(ESI)  $m/z$ : calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$   $\{[\text{M}+\text{Na}]^+\}$ : 325.37, found 325.38。

### (2) 化合物5的制备

将化合物3(199.32 mg, 0.66 mmol)溶解于4 mL二氯甲烷中,加入三氟乙酸(2 mL),在室温(25 °C)下搅拌30 min,反应结束后真空旋蒸,除去三氟乙酸得到化合物4,加入(*S*)-*N*-BOC-炔丙基甘氨酸(97.98 mg, 0.28 mmol)、苯并三氮唑-*N,N,N',N'*-

四甲基脲六氟磷酸酯(193.29 mg, 0.51 mmol)和 5 mL 二氯甲烷,用*N,N*-二异丙基乙胺调节 pH 值为 8~9,在室温(25 °C)下搅拌反应 6.0 h,反应结束后真空旋蒸除去溶剂,硅胶柱色谱纯化(洗脱剂:正己烷:乙酸乙酯=1:1, *V*:*V*),干燥后得到化合物 **5**,白色固体 214.05 mg,产率 92%; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 8.58(s, 1H), 8.18(s, 1H), 7.41~7.26(m, 5H), 7.17(d, *J*=8.3 Hz, 1H), 4.51~4.13(m, 4H), 2.91(dd, *J*=13.9 Hz, 3.0 Hz, 2H), 2.57~2.50(m, 4H), 1.45(s, 9H); <sup>13</sup>C NMR(126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 170.79, 169.91, 155.74, 139.40, 128.68, 127.50, 127.21, 81.37, 80.69, 78.97, 73.72, 73.19, 53.73, 52.11, 42.58, 28.61, 22.26; MS(ESI) *m/z*: calcd for C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> {[M+Na]<sup>+</sup>} 420.47, found 420.39。

### (3) 化合物 **7** 的制备

在 25 mL 反应瓶中加入化合物 **5**(45.01 mg, 0.11 mmol)、叠氮葡萄糖(46.48 mg, 0.22 mmol)、*L*-抗坏血酸钠(22.45 mg, 0.11 mmol)、三(3-羟丙基三氮基甲基)胺(24.60 mg, 0.05 mmol)以及溶剂 *N,N*-二甲基甲酰胺与纯水 3 mL(4:1, *V*:*V*)。氮气保护并注射五水硫酸铜(14.17 mg, 0.05 mmol)后,在 45 °C 下反应 1.0 h 得到化合物 **6**。随后加入 2 mL 二氯甲烷,1 mL 三氟乙酸除去 Boc 基团得到化合物 **7**。经半制备高效液相纯化(流动相:乙腈[0.1%(质量分数,下同)TFA]:水(0.1% TFA)=9:1, *V*:*V*)后真空冷冻干燥,得到白色粉末 40.88 mg,产率 51%; <sup>1</sup>H NMR(500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ: 7.99~7.71 (m, 2H), 7.41~7.17(m, 5H), 5.16~5.07(m, 1H), 4.74~4.59(m, 2H), 4.54(q, *J*=6.6 Hz, 1H), 4.45~4.21(m, 5H), 4.09(q, *J*=8.3 Hz, 1H), 3.98~3.74(m, 4H), 3.63~3.54(m, H), 3.33(h, *J*=5.4 Hz, 2H), 3.23(ddq, *J*=22.8 Hz, 14.9 Hz, 7.4 Hz, 2H), 2.14(dd, *J*=11.8 Hz, 6.1 Hz, 1H); <sup>13</sup>C NMR(126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ: 171.31, 171.20, 168.30, 168.21, 140.28, 137.67, 128.79, 128.76, 127.54, 127.37, 127.33, 125.33, 94.02, 90.80, 90.73, 76.19, 73.48, 73.45, 71.56, 71.53, 70.17, 70.07, 70.00, 69.88, 69.79, 69.61, 67.42, 67.32, 64.75, 64.62, 60.54, 60.49, 60.42, 58.16, 53.83, 53.72, 53.61, 52.54, 43.05, 42.98, 27.20, 26.75, 26.67; MS(ESI) *m/z*: calcd for C<sub>29</sub>H<sub>41</sub>N<sub>9</sub>O<sub>12</sub> {[M+H]<sup>+</sup>} 708.69, found 708.57。

### (4) 化合物 **NOTA-DDG** 的制备

将化合物 **7**(3.00 mg, 0.0073 mmol)和 **NOTA-NHS**(4.42 mg, 0.0063 mmol)加入 25 mL 反应瓶中,用 1 mL 的 *N,N*-二甲基甲酰胺溶解。加入 *N,N*-二异丙基乙胺调节 pH 值至 8~9,于室温(25 °C)下搅拌反应 2.0 h。反应结束后通过半制备型 HPLC 纯化(流动相:乙腈(0.1% TFA):水(0.1% TFA)=9:1, *V*:*V*),冷冻干燥得到 **NOTA-DDG**,白色固体 1.69 mg,产率 48%; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 8.72(q, *J*=6.5 Hz, 1H), 8.57(dt, *J*=25.3 Hz, 7.4 Hz, 2H), 8.09~7.68(m, 2H), 7.52~7.21(m, 5H), 5.13(s, 2H), 4.92(t, *J*=8.4 Hz, 2H), 4.61(dq, *J*=17.2 Hz, 8.3 Hz, 2H), 4.52~4.25(m, 4H), 4.03(dd, *J*=17.5 Hz, 9.0 Hz, 3H), 3.89(t, *J*=9.6 Hz, 2H), 3.82~3.61 (m, 14H), 3.55(ddd, *J*=25.2 Hz, 11.1 Hz, 5.0 Hz, 4H), 3.34(q, *J*=8.2 Hz, 2H), 3.23(t, *J*=9.3 Hz, 2H), 3.17~3.04(m, 4H), 3.01~2.84(m, 8H); <sup>13</sup>C NMR(126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 172.22, 171.09, 171.02, 167.82, 142.85, 139.72, 128.72, 127.66, 127.63, 127.18, 124.07, 123.58, 95.06, 91.31, 77.39, 74.42, 72.84, 71.24, 70.33, 68.28, 65.49, 61.36, 55.01, 54.02, 53.00, 50.37, 42.65, 40.55, 40.53, 40.46, 40.39, 40.30, 40.22, 40.13, 40.04, 39.96, 39.88, 39.80, 39.63, 39.46; MS(ESI) *m/z*: calcd for C<sub>41</sub>H<sub>60</sub>N<sub>12</sub>O<sub>17</sub> {[M+H]<sup>+</sup>} 993.99, found 993.68。

### 1.3 [<sup>68</sup>Ga]Ga-NOTA-DDG 的放射性标记

使用 0.05 M 的 HCl(1 mL)从 <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga 发生器中洗脱 <sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup> 离子,得到洗脱液。取 100 μL 洗脱液(1 mCi)于 5 mL 离心管中,用 0.25 M 的醋酸钠缓冲液调节 pH=4,随后加入 20 μg 标记前体 **NOTA-DDG** 混匀,在 37 °C 油浴锅中孵育 15 min 后成功获得探针 [<sup>68</sup>Ga]Ga-NOTA-DDG(图 2)。反应结束后取适量 [<sup>68</sup>Ga]Ga-NOTA-DDG 通过 Radio-HPLC 进行检测。

### 1.4 [<sup>68</sup>Ga]Ga-NOTA-DDG 体外稳定性测定

将 [<sup>68</sup>Ga]Ga-NOTA-DDG 分别与 PBS 缓冲液或小鼠血清混合,37 °C 下孵育 0.5 h、1.0 h 和 2.0 h。每个时间点孵育结束后,对于 PBS 孵育液,取出适量体积通过 Radio-HPLC 进行纯度检测。对于小鼠血清孵育液,先加入乙腈以沉淀蛋白,然

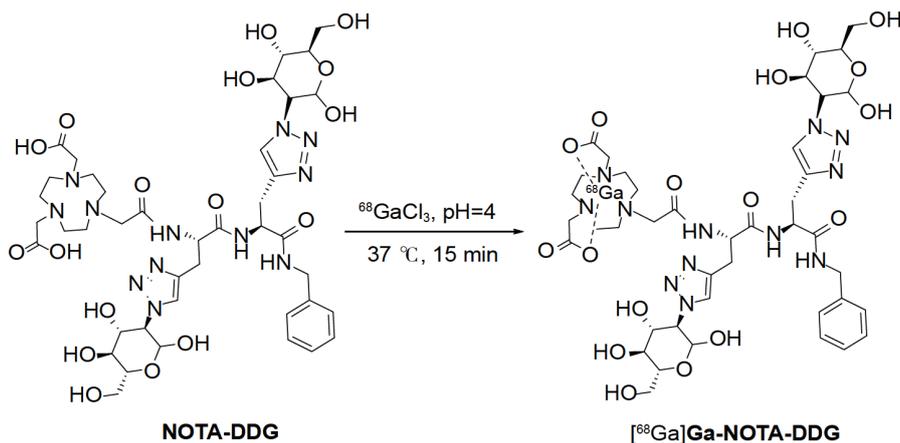


图2 探针 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$ 的放射性制备路线

Figure 2 Radioactive preparation route of probe  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$

后在 5000 rpm 下离心 5 min 以分离沉淀和上清,最后吸取上清液通过 Radio-HPLC 检测纯度。

### 1.5 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$ 脂水分配系数测定

向装有 1 mL 去离子水和 1 mL 正辛醇的 5 mL 离心管中加入  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$  (30  $\mu\text{Ci}$ ), 采用涡旋仪充分震荡后在 5000 rpm 下离心 5 min, 使两相破乳分离, 再从两相中各取 500  $\mu\text{L}$  分别加入到放免管中, 随后通过  $\gamma$  计数器分别检测正辛醇相、水相的放射性活度, 并计算  $\text{Log}P = \text{Log}(C_o/C_w)$ 。实验设有 6 个平行样本, 结果表示为平均值  $\pm$  标准差。

### 1.6 NOTA-DDG 细胞毒性实验

将 A549 细胞 (人非小细胞肺癌), 以每孔  $5 \times 10^3$  个细胞的密度平铺于 96 孔板, 孵育过夜使细胞贴壁。贴壁后实验组分别加入 100  $\mu\text{L}$  浓度为 0.78  $\mu\text{M}$ 、1.56  $\mu\text{M}$ 、3.12  $\mu\text{M}$ 、6.25  $\mu\text{M}$ 、12.50  $\mu\text{M}$ 、25.00  $\mu\text{M}$  和 50.00  $\mu\text{M}$  的化合物 NOTA-DDG, 对照组加入完全培养基。孵育 24 h 后加入四甲基偶氮唑盐 (MTT, 5 mg/mL, 20  $\mu\text{L}$ /孔) 并继续孵育 4 h, 最后加入二甲基亚砜 (150  $\mu\text{L}$ /孔) 后震荡 3~5 min。使用多功能酶标仪在 490 nm 的波长处检测样品吸光度, 最后根据实验组/对照组的吸光度计算细胞的存活率。

## 2 结果与讨论

### 2.1 前体 NOTA-DDG 的制备与表征分析

首先通过苄胺偶联两个炔丙基甘氨酸作为中心骨架, 基于铜催化叠氮-炔环加成 (CuAAC) 反

应, 该骨架与两分子叠氮葡萄糖实现精准偶联, 制备得到含两个葡萄糖靶向基团的中间体 7, 与 NOTA 螯合剂偶联后获得标记前体 NOTA-DDG, 产率达到 48%。利用 HPLC 对前体 NOTA-DDG 的纯度进行检测, 结果如图 3(a) 所示, 纯度超过 95%, 其保留时间为 10.4 min。图 3(b) 通过质谱 [MS(ESI)]

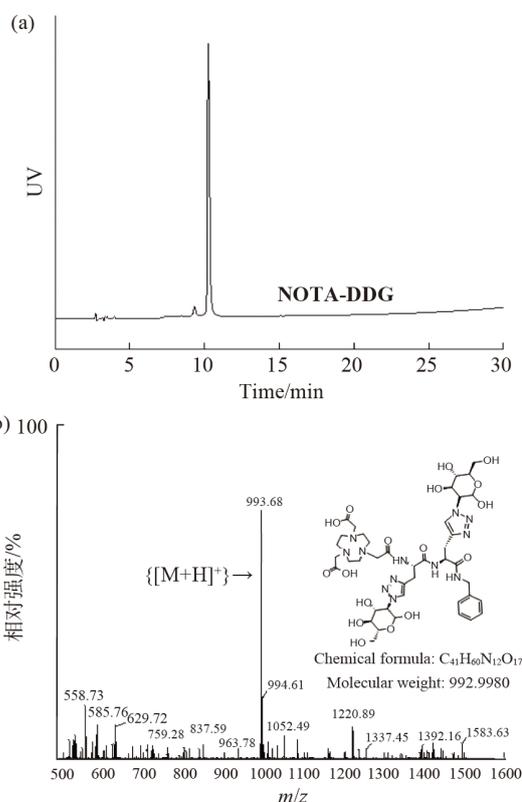


图3 探针前体 NOTA-DDG 的 HPLC 谱图(a) 及电喷雾质谱图(b)

Figure 3 HPLC spectrum(a) and MS(ESI) spectra(b) of probe precursor NOTA-DDG

结果表明其分子离子峰 $m/z$ :  $\{[M+H]^+\}=993.68$ , 验证其结构的正确性。

## 2.2 探针 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$ 的放射性标记及质控分析

螯合剂NOTA可以与金属离子 $^{68}\text{Ga}$ 发生络合反应, $^{68}\text{Ga}$ 标记NOTA-DDG能够在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 的温和条件下进行标记, 孵育15 min后获得探针 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$ 。经过Radio-HPLC检测, 该探针放射化学产率(RCY)为97%, 保留时间为10.5 min(图4), 放射化学纯度(RCP)可达到99%, 通过计算 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$ 的摩尔活度为 $3.40\text{ GBq}/\mu\text{mol}$ 。

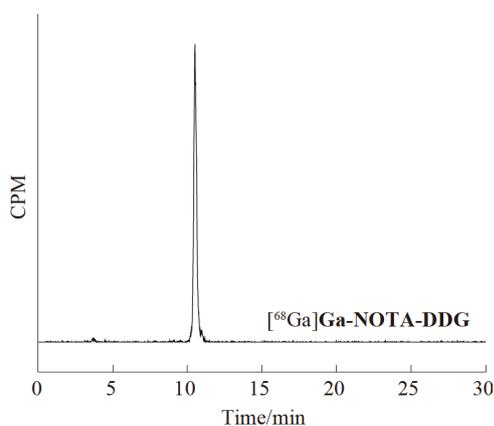


图4 探针 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$ 的放射性高效液相色谱图

Figure 4 Radio-HPLC spectrum of probe  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$

## 2.3 探针 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$ 的稳定性分析

将 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$ 分别与PBS和小鼠血清共孵育2.0 h, 经Radio-HPLC检测(图5), 该探针在PBS和小鼠血清中2.0 h均没有出现特征性降解峰, 稳定性达到99%。此结果满足PET分子探针的临床前研究标准, 可用于后续的生物性质研究。

## 2.4 探针 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$ 脂水分配系数

实验测得 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$ 的脂水分配系数( $\text{Log}P$ )为 $-3.50\pm 0.08$  ( $n=6$ ), 表明该探针具有较强的亲水性。这种特性可能源于分子结构中双葡萄糖靶向基团与NOTA螯合剂共同作用的极性特征。尽管高亲水性有利于探针在生物体内的溶解、传输与清除, 但也可能限制其跨膜渗透的能力。

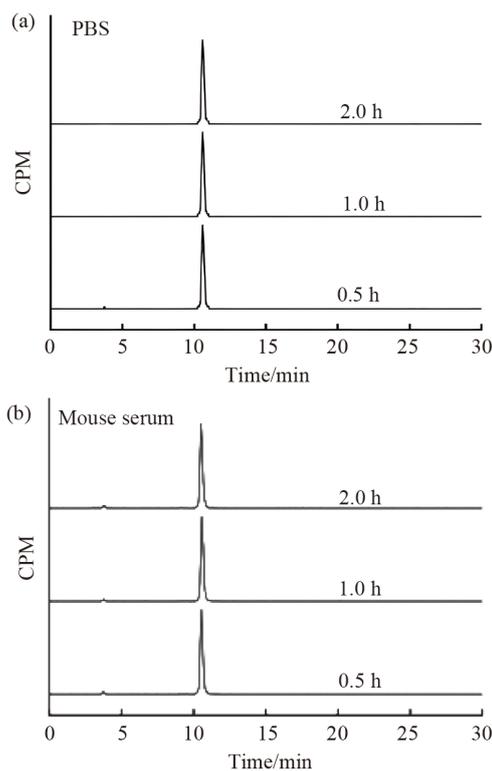


图5  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$ 在PBS(a)中的稳定性及小鼠血清(b)中的稳定性

Figure 5 Stability of  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NOTA-DDG}$  in PBS(a) and mouse serum(b)

因此, 研究引入除苄胺以外的能够增强亲脂性的基团, 以实现探针更好的靶向性和代谢稳定性。

## 2.5 NOTA-DDG 细胞毒性分析

经MTT法检测化合物NOTA-DDG对A549细胞的毒性, 结果如图6所示。在 $50\text{ }\mu\text{M}$ 的浓度下,

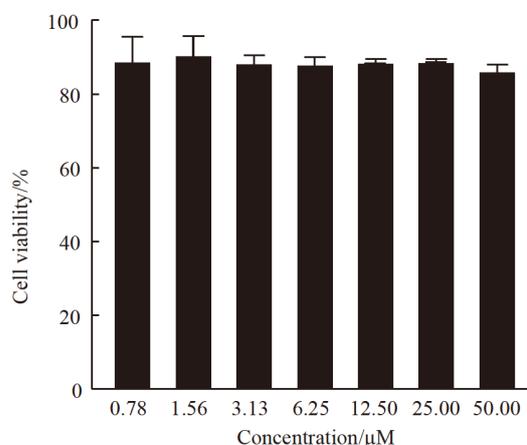


图6 NOTA-DDG对A549细胞的细胞毒性

Figure 6 Cytotoxicity of NOTA-DDG against A549 cell

细胞存活率仍高于87%,表明化合物NOTA-DDG对细胞毒害作用较小,有较好的生物相容性,可用于后续的生物评估实验。

### 3 结论

本研究设计合成了一种新型葡萄糖衍生物分子探针 $^{68}\text{Ga}$ -Ga-NOTA-DDG。该探针合成简单、条件温和,无需进一步纯化,可在15 min内完成放射性标记,且放射化学产率高,放射化学纯度大于99%,并具有良好的体外稳定性。此外,细胞毒性实验表明:NOTA-DDG前体具有良好的生物相容性。通过这种双靶向基因设计策略,可能增强探针对肿瘤细胞的亲和力,为后续体内生物学评价奠定了基础,也为开发 $^{68}\text{Ga}$ 标记的肿瘤代谢显像探针提供新思路。

### 参考文献

- [1] SCHWENCK J, SONANINI D, COTTON J M, *et al.* Advances in PET imaging of cancer[J]. Nature Reviews Cancer, 2023, **23**(7): 474-490.
- [2] TEKADE R K, SUN X. The Warburg effect and glucose-derived cancer theranostics[J]. Drug Discovery Today, 2017, **22**(11): 1637-1653.
- [3] GLENISTER A, SIMONE M I, HAMBLEY T W. A Warburg effect targeting vector designed to increase the uptake of compounds by cancer cells demonstrates glucose and hypoxia dependent uptake[J]. PLoS One, 2019, **14**(7): e0217712.
- [4] ALMUHAIDEB A, PAPATHANASIOU N, BOMANJI J.  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT imaging in oncology [J]. Annals of Saudi Medicine, 2011, **31**(1): 3-13.
- [5] BLACK R, BARENTSZ J, HOWELL D, *et al.* Optimized  $^{18}\text{F}$ -FDG PET-CT method to improve accuracy of diagnosis of metastatic cancer[J]. Diagnostics(Basel), 2023, **13**(9): 1580.
- [6] COLEMAN R E. FDG imaging[J]. Nuclear Medicine and Biology, 2000, **27**(7): 689-690.
- [7] 陈立光, 梁明泉, 邓庆荣, 等. 一种PET/CT显像剂 $^{18}\text{F}$ -FDG的新型制备方法[J]. 泰山医学院学报, 2018, **39**(7): 742-745.  
(CHEN L G, LIANG M Q, DENG Q R, *et al.* A novel preparation method of PET/CT imaging agent  $^{18}\text{F}$ -FDG[J]. Journal of Taishan Medical College, 2018, **39**(7): 742-745.)
- [8] BANERJEE S R, PULLAMBHATLA M, BYUN Y, *et al.*  $^{68}\text{Ga}$ -labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen(PSMA) for imaging prostate cancer[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2010, **53**(14): 5333-5341.
- [9] FAN D, ZHANG X, ZHONG L, *et al.*  $^{68}\text{Ga}$ -labeled 3PRGD<sub>2</sub> for dual PET and cerenkov luminescence imaging of orthotopic human glioblastoma[J]. Bioconjugate Chemistry, 2015, **26**(6): 1054-1060.
- [10] KEELING G P, SHERIN B, KIM J, *et al.* [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-THP-Pam: A bisphosphonate pet tracer with facile radiolabeling and broad calcium mineral affinity[J]. Bioconjugate Chemistry, 2021, **32**(7): 1276-1289.
- [11] CHAN D L, HAYES A R, KARFIS I, *et al.* Dual [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-TATE and [ $^{18}\text{F}$ ]FDG PET/CT in patients with metastatic gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: A multicentre validation of the NETPET score[J]. British Journal of Cancer, 2023, **128**(4): 549-555.
- [12] 梁蓓蓓, 李惠蓉, 徐梁, 等. 免疫检查点靶向小分子PET探针的制备及表征[J]. 合成化学, 2024, **32**(4): 311-318.  
(LIANG B B, LI H R, XU L, *et al.* Preparation and characterization of small-molecule PET probes targeting immune checkpoints[J]. Chinese Journal of Synthetic Chemistry, 2024, **32**(4): 311-318.)
- [13] YANG Z, XIONG C, ZHANG R, *et al.* Synthesis and evaluation of  $^{68}\text{Ga}$ -labeled DOTA-2-deoxy-D-glucosamine as a potential radiotracer in  $\mu\text{PET}$  imaging [J]. American Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2012, **2**: 499-507.
- [14] ZHANG Y H, BRYANT J, KONG F L, *et al.* Molecular imaging of mesothelioma with  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG and  $^{68}\text{Ga}$ -ECG[J]. Journal of Biomedical Biotechnology, 2012, **2012**: 232863.
- [15] JI S, CZERWINSSI A, ZHOU Y, *et al.*  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Galacto-RGD<sub>2</sub>: A novel  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled cyclic RGD peptide dimer useful for tumor imaging[J]. Molecular Pharmaceutics, 2013, **10**(9): 3304-3314.
- [16] COSSU J, THOREAU F, BOTURYN D. Multimeric RGD-based strategies for selective drug delivery to tumor tissues[J]. Pharmaceutics, 2023, **15**(2): 525.
- [17] HE S, FANG Y, WU M, *et al.* Enhanced tumor targeting and penetration of proteolysis-targeting chimeras through iRGD peptide conjugation: A strategy for precise protein degradation in breast cancer[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2023, **66** (24): 16828-16842.