

合成放射性核苷藥物作為追蹤 HSV TK 癌症基因治療的探針

姜豐武 羅建苗 俞鐘山*

國立清華大學生醫工程與環境科學系

摘要：癌症基因治療是一種頗具潛力的癌症治療方法。為達到最佳的治療效果，必須先發展能定位基因表現的探針。藉由核醫造影儀器如正電子放射斷層掃描(PET)與單光子放射斷層掃描(SPECT)，非侵入性的示蹤乃得以實現。疱疹病毒基因(HSV tk)是目前基因探針系統中最常使用的一種報導基因，而放射性核苷藥物則是此報導基因的示蹤劑。目前，已有許多放射線核苷藥物被製備成功，常見的標誌元素包括氟、溴、碘。氟-18、溴-75、溴-76、溴-80、碘-124可以用PET造影；碘-123、碘-131則使用SPECT造影。氟標誌核苷藥物的方法有兩種，一種是使用磺化離去基和氟負離子的親核氟化反應，另一種是用氟氣體進行的親電子氟化反應。透過有機合成和放射化學的配合，多種放射性藥物得以發展成功。因此，藉助各種功能的藥物，臨床試驗的時程得以加速，促使癌症基因治療提早問世。

關鍵字：癌症基因治療，基因探針，核苷藥物，放射性鹵化反應，正電子放射斷層掃描，單光子放射斷層掃描，人類疱疹病毒第一型胸腺嘧啶激酶基因

前 言

基因治療 (gene therapy)

理論上，起因於基因缺陷的疾病，應該可以利用輸送相關基因到病灶位置來給予治療¹。自1970年代開始，科學家研究了許多遺傳疾病 (genetic diseases)^{2,3}；終於在1990年代，第一個認可的臨床基因治療流程進入臨床試驗 (clinical trials) 階段。基因治療不只是用在修正基因的缺陷，也可以增加特定細胞的功能。這種外加基因的治療方式，在癌症治療 (cancer therapy) 發展上引

起重視¹；1990年代的美國，開始了第一個惡性黑色素瘤 (malignant melanoma) 的基因治療臨床試驗⁴，從此，許多惡性腫瘤 (malignant tumor) 的基因治療也進入臨床試驗，例如卵巢癌 (ovarian carcinoma)、腦瘤 (brain tumors)、...等等^{5,6}。已有超過500個臨床基因治療試驗陸續展開，其中大部分是針對癌症治療^{1,7}。

有關治療癌症方面，各種基因治療的策略仍處於研究發展階段。這些策略包括免疫療法 (immunotherapy)、外加抑制癌症基因 (tumor suppressor genes)、抑制腫瘤血管新生成 (angiogenesis)、使用前驅藥物 (prodrug) 活化基因⁸。而利用前驅藥物活化基因治療癌症的策略又稱為癌症自殺基因治療 (suicide gene therapy)。

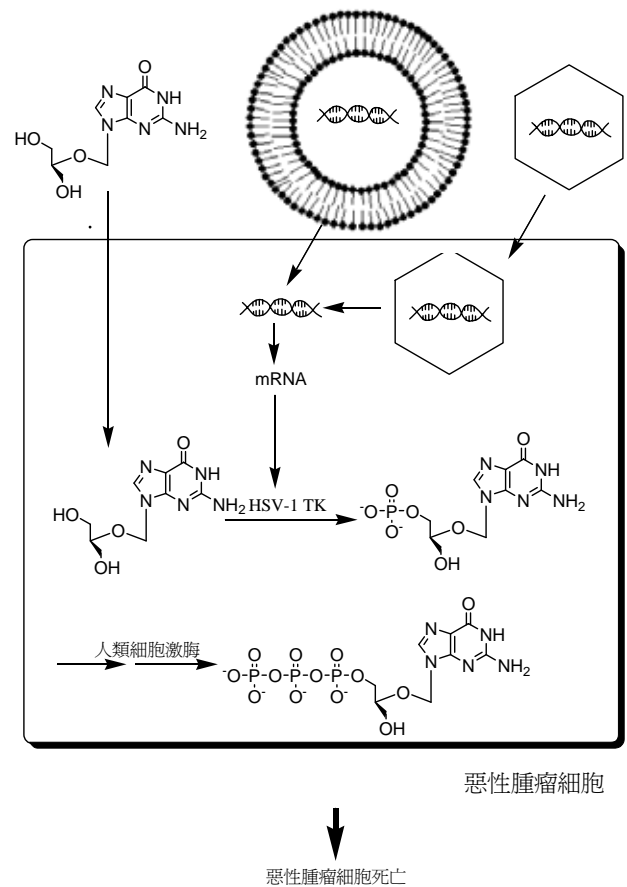
惡性腫瘤之自殺基因治療

目前癌症治療的主要方式包括：外科手術 (surgery)、放射治療 (radiation therapy) 和化學治療；然而，這些方法不足以有效地治療癌症後期的病患。因此，部分學者提出創新的治療方式。自殺基因治療是一種被認為有潛力的癌症治療方法。它是先將治療基因 (therapeutic genes) 輸送到癌症細胞中，此基因隨後表現出對應序列之蛋白酵素 (enzyme)，可將外加之無毒性前驅化合物轉變成有毒的化合物⁹。

科學家目前已經發現數種有潛力的自殺基因¹⁰⁻¹³。其中，人類疱疹病毒第一型胸腺嘧啶激酶基因 (Human Herpes Simplex Virus type 1 thymidine kinase, HSV-1 tk) 最被廣泛研究。HSV-1 tk 的表現讓癌細胞對抗病毒藥物敏感，ganciclovir 是其中一例，這些抗病毒藥物就是核苷類似物。和人類本身的胸腺嘧啶激酶 (thymidine kinase) 相比，疱疹病毒具有比較差的特異性 (specificity)，因此能夠比人類的胸腺嘧啶激酶更容易將核苷類似物單磷酸化 (monophosphorylation)¹⁴，造成癌細胞內高濃度的單磷酸化核苷類似物，透過人體本身的雙磷酸化酶 (diphosphorylase) 和三磷酸化酶 (triphosphorylase) 產生三磷酸化核苷類似物 (圖一)，而這個三磷酸化核苷類似物會參與去氧核糖核酸 (DNA) 的複製 (replication)，進而抑制 DNA 的合成；已經證實三磷酸化核苷類似物可以抑制 DNA 聚合酶 (DNA polymerase)¹⁵。除此之外，對於被單磷酸化之嘧啶核苷類似物而言，也可以透過抑制單磷酸胸腺嘧合成酶 (thymidylate synthase)，而進一步的抑制三磷酸胸腺嘧的合成，結果是造成了 DNA 合成的原料不足阻礙了 DNA 的合成¹⁶⁻¹⁸ (圖二)。不論是那一種生化機轉，利用抑制 DNA 的合成，便可以達到抑制 HSV-1 tk 轉染癌細胞 (transfected cancer cells) 生長的效果¹⁹ (圖一、圖二)。

HSV tk 自殺基因治療的方法首先由 Moolten 提出²⁰。他將 BALB/c murine 的肉瘤細胞轉染 HSV-1 tk。體外 (In-vitro) 實驗證實這些被轉染的細胞株對於 ganciclovir 有高度敏感性²⁰。體內 (In-vivo) 實驗則證實 ganciclovir 的確可以使鼠體內被轉染的腫瘤細胞株退化²⁰。近十年來，超過四百篇的論文討論 HSV tk/ganciclovir 對於癌症自殺基因治療的潛力。基於這些動物模式實驗的正面結果，第一期和第二期的臨床試驗研究已經展開^{5, 6, 21-24}；然而，第一次試驗的結果不是很成功^{22, 24}。原因在於沒有良好的方法來幫助自殺基因輸送到目標細胞的位置；於是，臨床研究重心就轉移到 HSV tk 輸送系統上。關於基因的輸送系統，目前的發展大致可分為兩類：

病毒性載體 (viral vector) 和非病毒性載體 (non-viral vector)^{1, 25, 26}。病毒性的載體源自於反轉錄病毒 (retroviruses)、lentiviruses、腺病毒 (adenoviruses)、疱疹病毒 (herpes simplex viruses)、腺病毒相關病毒 (adeno-associated viruses)。非病毒性的載體則是採用微脂體 (liposome)，微脂體是由一種由親水 (hydrophilic) 端和疏水 (hydrophobic) 端的分子所構築。



圖一 HSV tk/GCV 癌症自殺基因治療的生化機轉

為了要評估活體內 HSV tk 輸送系統的功效，必須發展一種方法來評估基因表達 (gene expression) 的程度與基因的分佈。量測的方法或許有很多種，包括螢光、冷光、近紅外線、核子醫學藥物²⁷⁻³²。然而，螢光、冷光與近紅外線的發射物質往往需要一些化學分子發射體，這些化學分子發射體過於巨大，做為標誌材料容易

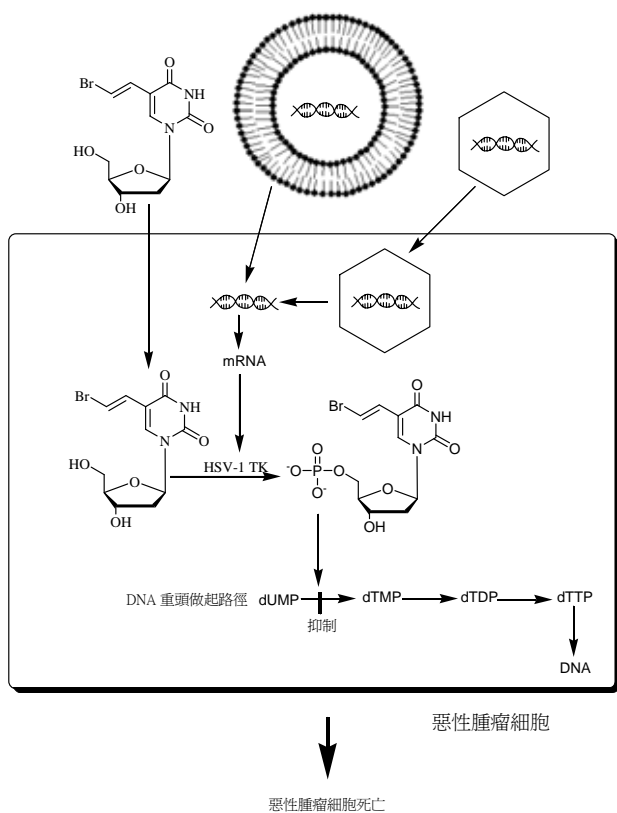
改變生物分子的活性，而且，為了要達到非侵入性的目的，必須使用具備穿透力強射線之核子醫學(nuclear medicine) 藥物，核子醫學藥物就是放射性化合物。因此，臨床上評估藥物輸送系統目前是以核子醫學藥物造影較佔優勢。此外，最近在非侵入性的 HSV tk 基因表現之核醫造影有了很大的進展，促使放射性藥物 (radiopharmaceuticals) 被積極研發¹。目前，HSV tk 治療模式進入臨床試驗第二期，因此，為加速臨床實用性，HSV tk 輸送效率必須透過影像監測系統予以評估。利用 HSV tk 作為一個影像的報導基因 (reporter genes) 可以間接追蹤治療基因的成效。而考慮分子生物的層面，可以將報導基因和治療基因的啟動子 (promoter) 相同化以達到共同表現蛋白質的目的³³；至於偵測放射性活度 (radioactivity) 的儀器層面，可以利用正子放射斷層掃描 (positron emission tomography, PET) 或單光子放射斷層掃描 (single photon emission computer tomography, SPECT) 來達成³³。至於為何放射性藥物能夠正確定位和定量治療基因的輸送成效，將在下段文字說明之。

HSV tk 核子醫學影像追蹤及放射性藥物

隨著影像醫學的發展，目前問世的造影儀器包括電腦斷層掃描、超音波、磁振造影、單光子放射斷層掃描和正子放射斷層掃描³⁴⁻⁴⁴。正子放射斷層掃描或單光子放射斷層掃描的技術使得利用活體分析生化反應過程變得可行；操作原理是藉由一些放射性的示蹤劑 (tracers)，這些示蹤劑都是帶有放射性核種的化合物，單光子放射斷層掃描和正子放射斷層掃描係屬於核子醫學影像造影。或許你會問，超音波呈像和磁振造影能否追蹤基因治療？雖然它們也用化合物當對比造影劑，但磁振造影所用造影劑必須利用高磁感受性原子進行磁標誌，其原子為金屬不適合標誌核苷天然物³⁴。另一方面，體內細胞的受器有限，往往很容易就被高濃度藥物佔滿，因此若使用訊號數量級遠遠不如伽瑪射線的對比造影劑，就不能用很微量的藥品來偵測，也就不可能達到探針的目的。

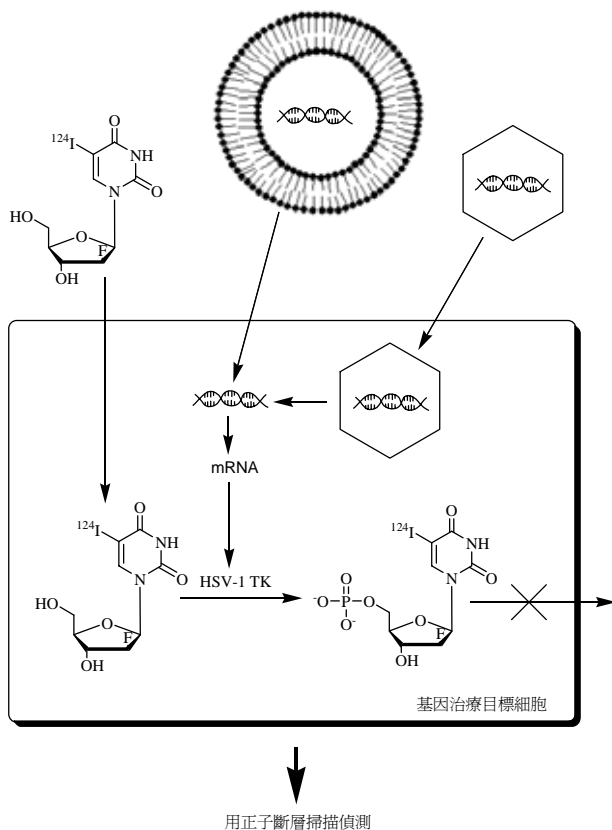
正電子放射斷層掃描與單光子放射斷層掃描技術的發明，加上針對分析人體生化代謝的優勢，促使放射性藥物的蓬勃發展，目前已經有數種針對 HSV-1 tk 之放射性的藥物問世¹。這些藥物可以分成兩類：一種是胸腺嘧啶核苷的類似物 (thymidine analogs)，另一種是抗疱疹病毒藥物 (antiherpes drugs) 之非環狀鳥糞嘌呤核苷的類似物 (acyclic guanine derivatives)。不論是那一種放射性追蹤藥物，其顯像的生化原理是透過 HSV-1 TK 的磷酸化致使示蹤藥物帶負電而無法穿過細胞膜 (cytoplasmic membrane)，因此產生 HSV-1 tk 表現細胞有累積 (accumulation) 示蹤藥物的效果，再使用正子放射斷層掃描或單光子放射斷層掃描來顯像並定量 HSV-1 tk 基因表現的程度 (圖三)^{1, 33}。

目前已經有一些放射線標誌核苷的類似物應用在 HSV tk 基因治療之核醫影像的研究¹。關於胸腺嘧啶核苷的類似物的部分，有包括 FMAU **1** (5-methyl-1-(2'-deoxy-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosyl)uracil, 5-甲基-1-(2'-去氧-2'-氟-β-D-阿拉伯糖化)尿嘧啶)、IVFAU **19** ((E)-5-(2-iodovinyl)-1-(2-deoxy-2-fluoro-β-D-arabinofuranosyl)uracil, (E)-5-(2-碘乙炔化)-1-(2-去氧-2-氟-β-D-阿拉伯糖)尿嘧啶)、IVFRU **20** ((E)-5-(2-iodovinyl)-1-(2-deoxy-2-fluoro-β-D-ribofuranosyl) uracil, (E)-5-(2-碘乙炔化)-1-(2-去氧-2-氟-β-D-核糖)尿嘧啶)、FIAU **2, 15** (2'-fluoro-5-iodo-2'-deoxy-1-β-D-arabinosyluracil, 2'-氟-5-碘-2'-去氧-1-β-D-阿拉伯糖)尿嘧啶) (圖三)、FIRU **16** (2'-fluoro-5-iodo-2'-deoxy-1-β-D-arabinosyluracil, 2'-氟



圖二 HSV tk/BVDU 癌症自殺基因治療的生化機轉

-5-碘-2'-去氧-1-β-D-阿拉伯糖)尿嘧啶)；至於非環狀鳥糞嘌呤核苷的類似物則是 FGCV **23** (8-[¹⁸F]fluoroganciclovir)、FPCV **24** (8-[¹⁸F]fluoropenciclovir)、FHPG **26** (9-[3-[¹⁸F]fluoro-(1-hydroxy-2-propoxy)methyl]guanine, 9-[3-[¹⁸F]fluoro-(1-氫氧基-2-丙氧基)甲基]鳥糞嘌呤)、FHBG **25** (9-(3-[¹⁸F]fluoro-(hydroxymethyl)butyl)guanine, 9-(3-[¹⁸F]fluoro-(氫氧化甲基)丁基)鳥糞嘌呤)¹。(圖四)



圖三 以 [¹²⁴I]FIAU 為基因探針追蹤 HSVtk 基因治療

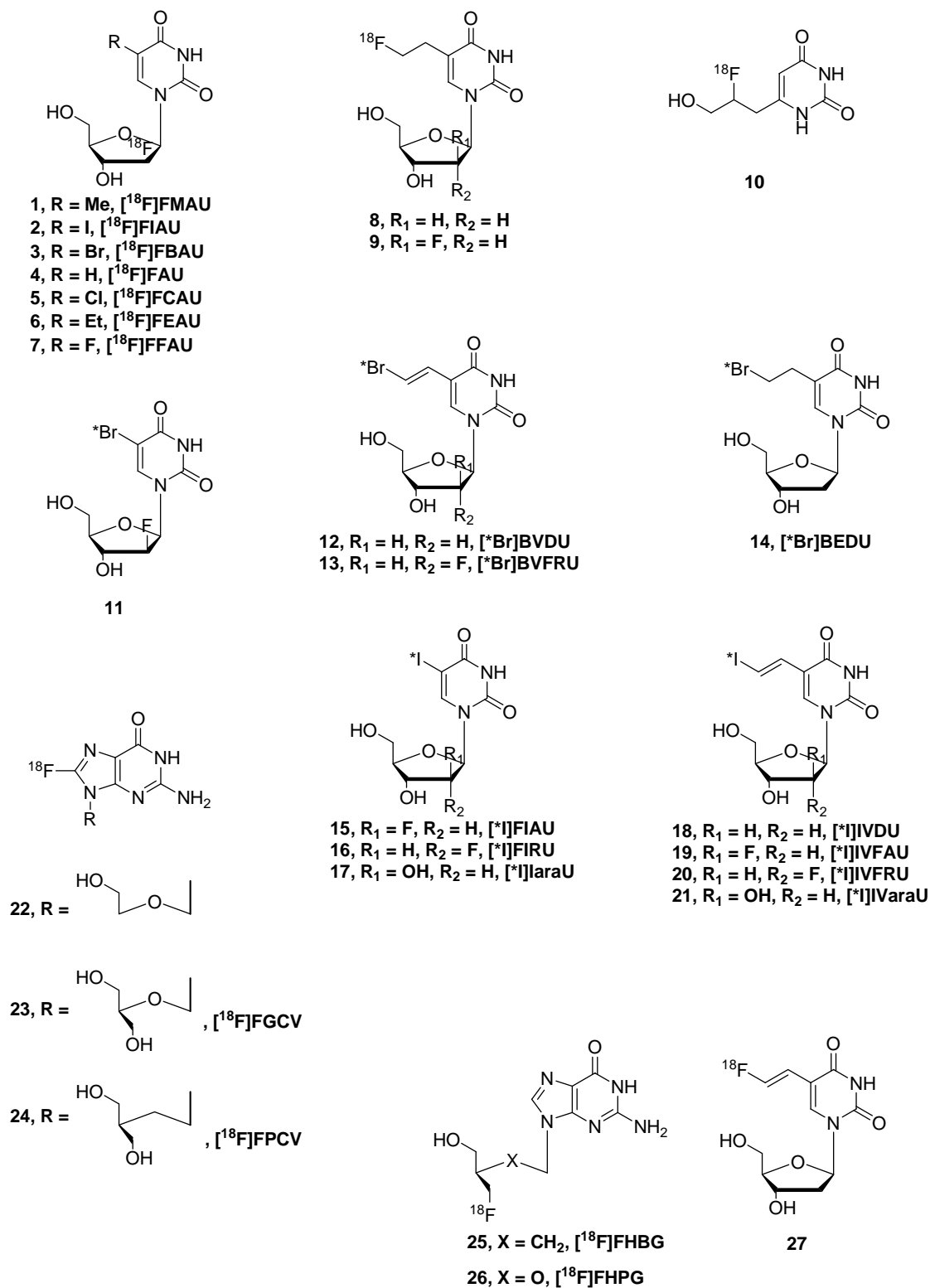
做出一張成功的 HSVtk 放射性追蹤核醫影像必須考慮：(一) 放射性標誌的製備過程 (radiolabeling procedure)、(二) 放射性核種 (radionuclide)、(三) 追蹤藥物在活體內的穩定度、(四) 藥物的廓清 (clearance)、(五) 細胞膜上的運輸藥物蛋白 (membrane transport proteins)、(六) 選擇性 (selectivity) 和敏感度 (sensitivity)¹。此外，這六項因素並非完全獨立。

放射性核種的選擇，必須考慮「核種和偵測儀器的搭配」、「核種的生物相容性」。核種若放出伽瑪射線，可以使用 SPECT；核種若是放出正電子，利用正電子和電子互毀會放出方向相反且能量為 511 keV 的伽瑪射線，則可用 PET 偵測^{34,45}。大部份具有生物相容性的核種多是以正電子放射為主⁴⁵，例如，碳-11、氮-13、氧-15、氟-18、溴-75、溴-76、溴-80、碘-124^{45,46,47}，氟之所以有生物相容性是因為氟的凡得瓦爾半徑和氫相似，因此可以取代氫，溴和碘的凡得瓦爾半徑和胸腺嘧啶核苷的五號碳上的甲基類似，亦可以取而代之成為有生物相容性的核種^{47,48,49}。由於正電子放射藥物的生物相容性高，放射線能量適中且定位較準確，因此，正電子放射核種比起只能放出伽瑪射線核種的較佔優勢。然而，隨著科技的進步，新一代的 SPECT/CT 甚至具備更優於 PET 的次毫米解析度。

示蹤劑必須能夠穩定的存在於活體內，若是示蹤劑注入人體後被分解，則會失去原來具有的生物活性而不能達到造影的目的。對核苷的類似物而言，體內的磷酸化酶會分解去氧核糖嘧啶核苷成為嘧啶鹼基和去氧五碳糖⁵⁰，而在五碳糖上的二號碳上的氫取代成氟或是阿拉伯糖則可以避免藥物被分解，因此目前用做 HSV tk 之核醫造影的胸腺嘧啶核苷的類似物之五碳糖的二號碳上大都將氫置換成氟或氫氧基。

關於類似核苷藥物是如何進入細胞，目前還沒有定論，一派認為細胞膜上有某些運輸蛋白會幫助核苷藥物進入細胞^{1,51,52}，另一派則認為藥物的親脂性可以幫助核苷藥物進入細胞；不論是何種說法，當這些核苷藥物的五碳糖上的五碳氫氧基被磷酸化，單磷酸核苷藥物的親脂性因為磷酸的存在而下降許多，因而不能被動地自由離開細胞，最後可以造成藥物的累積而達到造影的效果，至於造影效果的好壞，很難用複雜的活體生化反應理解。然而，藥物進入的效率和不同細胞上的運輸蛋白量的確會影響到影像的敏感度和特異性。

至於影像的敏感度和特異性，影響的因素很多：包括核種和核醫造影儀器、放射化學純度、核苷藥物在活體內的穩定度和生理代謝、核苷藥物被細胞本身 TK 和 HSV TK 的磷酸化濃度高低和差異、...等。放射線藥物製備過程的好壞會影響此種放射線藥物是否利於使用；討論放射性藥品的製備優劣要考慮以下幾點：(一) 標誌過程的效率、(二) 產物的化學穩定度、(三) 無載體的狀態、(四) 比活性、(五) 純化及分析⁴⁵。本篇回顧性文章把重點放在放射性類似核苷藥物的製備研究。



圖四 針對 HSVtk 為報導基因所設計及製備的放射線類似核苷藥物

放射性核種及合成標誌核苷化合物

目前,針對 HSV tk 方式評估基因輸送系統與基因表現所設計的放射性藥物有 27 種¹,這些藥物我們稱之為 HSV tk 基因探針(圖四),主要是以氟—18、放射性溴與放射性碘三類同位素標誌;其合成製備方式敘述如下:

(一) 氟—18

氟—18 是一種會放出正電子的核種,它的半化期是 110 分鐘^{45, 46},由於凡得瓦爾半徑和氫元素類似可以模擬天然物的氫,且半化期長短適中,因此它是一種適用於核醫分子影像的核種^{45, 47};在 27 種 HSV tk 基因探針中,以氟—18 標誌的藥物就佔 16 種。然而標誌方式卻只有兩類;一類是用氟—18 氣體進行親電子氟化反應;另一類是用氟—18 負離子進行親核氟化反應,合成製備過程如下:

(1) 親核氟化反應

適用於氟—18 取代氫氧基,此種反應是先將不欲反應的氫氧基和胺基保護起來,然後再把欲取代氫氧基磺化產生好的離去基,最後再用氟—18 負離子進行標誌和去保護基。氟負離子的來源可以是 KF 或 Tetrabutyl ammonium fluoride (TBAF)。式一⁵³⁻⁵⁶表示了此種方式用在^{[18F]FMAU 1}、^{[18F]FIAU 2}、^{[18F]FBAU 3}、^{[18F]FAU 4}、^{[18F]FCAU 5}、^{[18F]FEAU 6}與^{[18F]FFAU 7}的合成,由於含氮鹼基的立體障礙,氟標誌反應必須在五碳糖與鹼基縮合反應之前進行;此種方式的缺點是含氮鹼基和五碳糖的縮合會產生 α 和 β 立體化學的核苷,因此降低標誌的

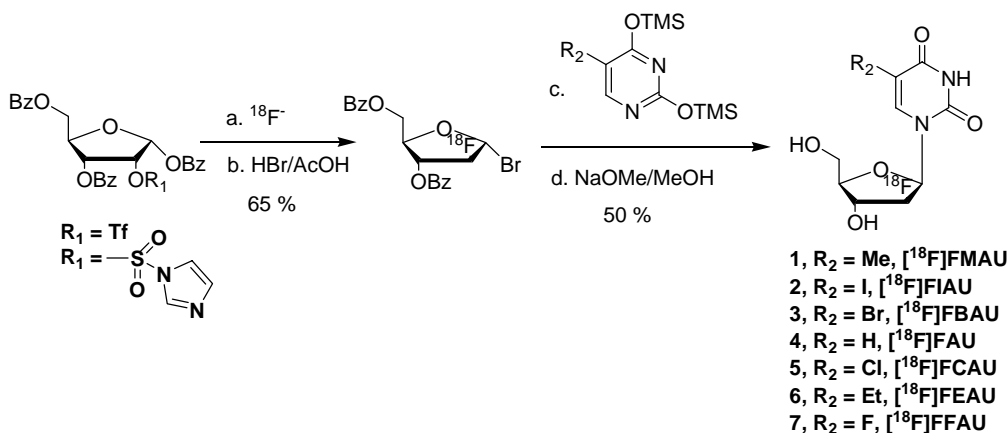
總產率,此外,氟—18 標誌在五碳糖的二號碳的合成設計有缺點:容易降低氟—18 的放射線活性,畢竟含氮鹼基和五碳糖的縮合反應需要額外時間。

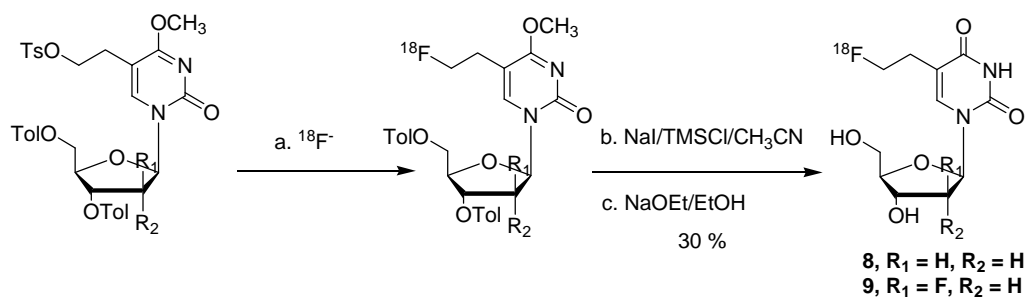
除了^{[18F]FMAU}、^{[18F]FIAU}、^{[18F]FBAU}、^{[18F]FAU}、^{[18F]FCAU}、^{[18F]FEAU}、^{[18F]FFAU}的合成,化合物 8、9、10、^{[18F]FHPG}、^{[18F]FHBG}也是利用磺化氫氧基產生好的離去基,最後再用氟—18 負離子進行標誌的例子;然而,和化合物 1-7 顯著不同的是,為了避免氟—18 標誌時鹼基上 NH 的干擾,化合物 8、9、10、^{[18F]FHPG 25}、^{[18F]FHBG 26}是利用甲基化作為保護基去除氮上的氫來達成。(式二^{47, 57} & 式三⁵⁸ & 式四⁵⁹⁻⁶⁴)。

(2) 親電子氟化反應^{56, 65, 66}

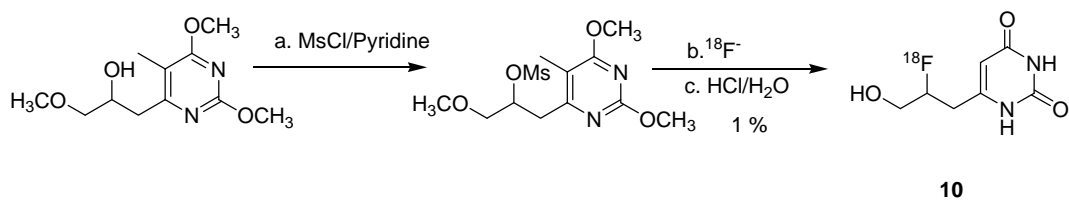
到目前為止,親電子氟化反應主要是用氟—18 氣體來進行。式五^{65, 66}顯示了^{[18F]FACV 22}、^{[18F]FPCV 23}和^{[18F]FGCV 24}的氟—18 放射線標誌是採取這種方法^{65, 66};ACV、PCV、GCV 是標誌反應的起始物,而這些起始物都有一個共同特徵—它們的含氮鹼基都是鳥糞嘌呤,這種共同的特徵也使得標誌產物的氟—18 位置都在鹼基的八號碳上,原因是鳥糞嘌呤的八號碳位置電子較多,因此氟氣體優先與之反應。

式五亦表示了尚未去保護的化合物 28 之氟—18 氣體標誌方法^{47, 57},化合物 28 (式五)去保護後即可製成 27 (圖四)。此種標誌方法的前驅物是利用三丁基有機錫作為置換氟官能基。三丁基有機錫的製備是先製備含三鍵之有機矽,然後再去除矽,最後用 AIBN 催化氫化三丁錫作三鍵加成形成三丁基有機錫乙烯基的結構。值得注意的是,因為鹼基上的 NH 會先和氟進行反應,所以必須先將其保護才能進行氟—18 氣體的標誌。

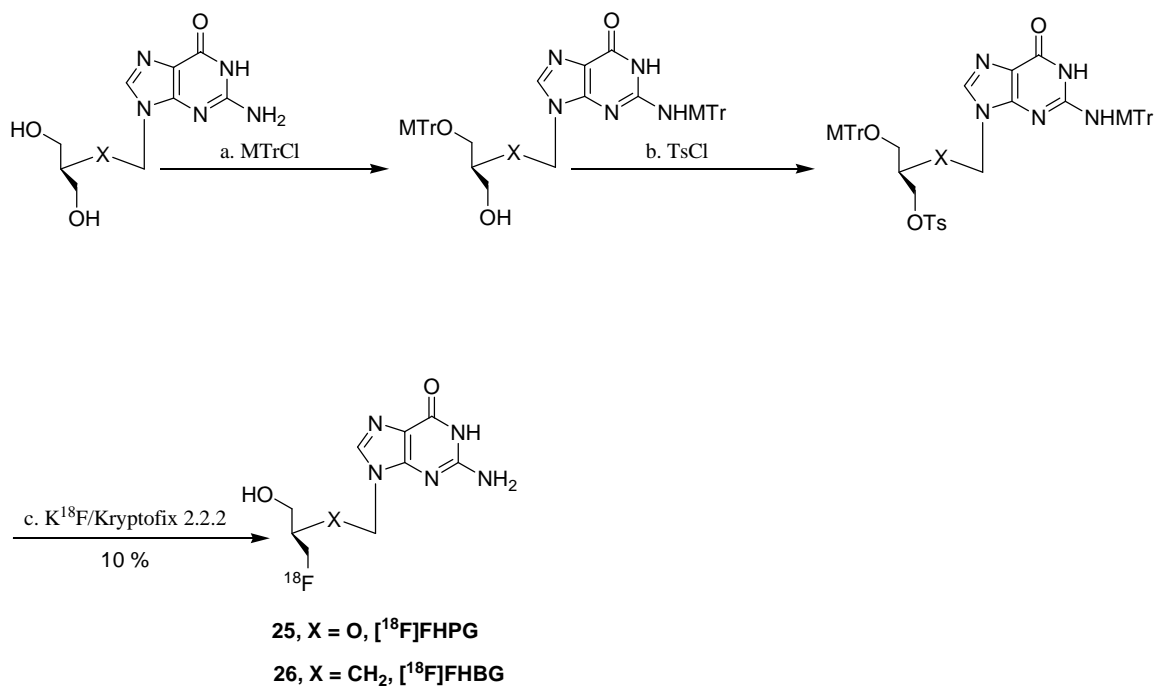




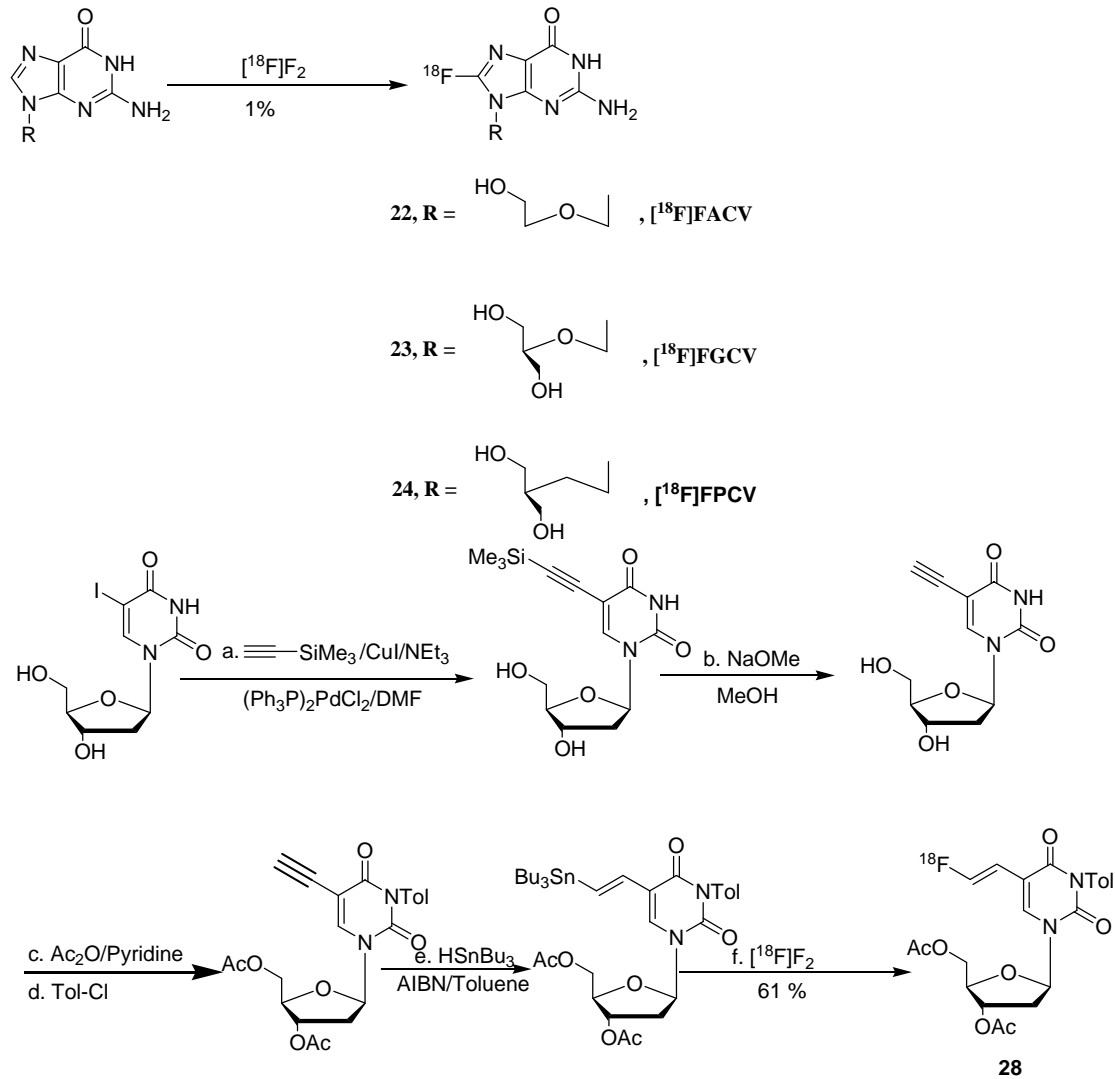
式二



式三



式四

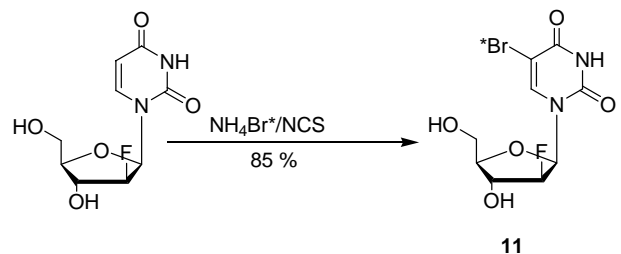


式五

(二) 放射性溴

在 27 種核苷藥物中，放射溴化的核苷藥物只佔 4 種；雖然目前放射性溴同位素，並沒有廣泛地利用在核醫造影上，其放射性藥物的合成仍然有學術價值。這些放射溴化之 HSV tk 的基因探針，都是胸腺苷的類似物。主要是利用氧化劑先將還原態的負一價溴轉變成氧化態的正一價溴，再利用親電子反應的方式將溴標誌上去。這些氧化劑包括 N-chlorosuccinimide (NCS) 和 Chloramine T (CAT)。

式六⁶⁷表示 $[\text{Br}^*]\text{FBAU } 11$ 的標誌方法，它的標誌起始物是五號碳缺甲基的尿嘧啶去氧氟化阿拉伯糖苷，使用的氧化劑是 NCS。

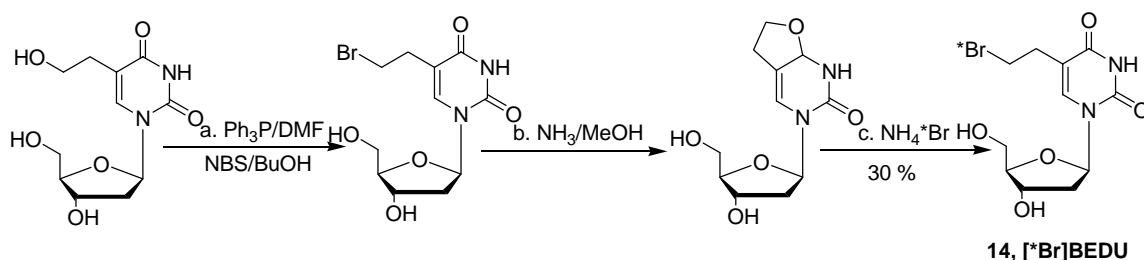


式六

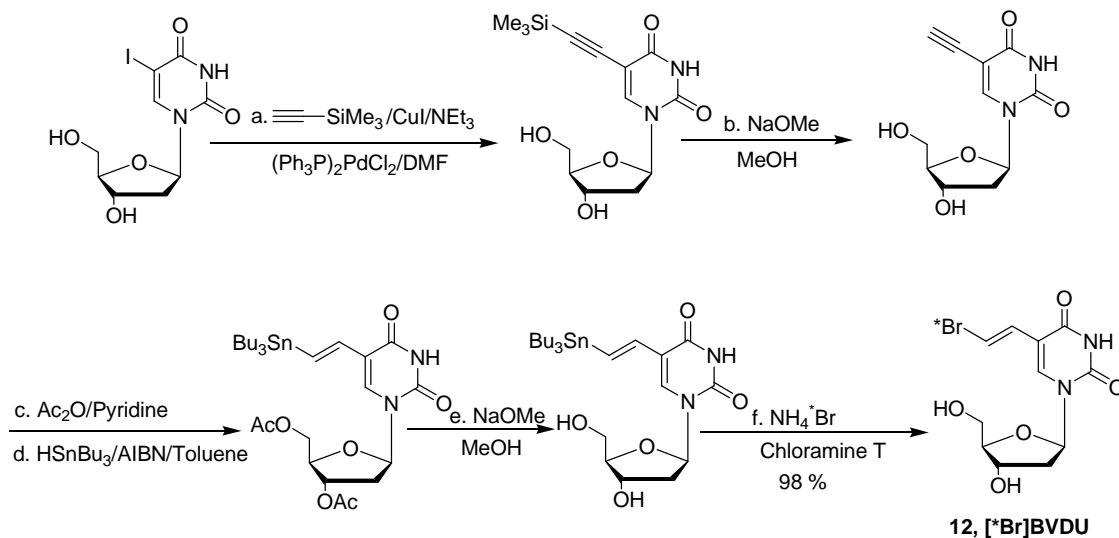
式七^{47,57}表示[Br*]BEDU **14**的標誌方法,此方法是先用NBS、三苯化磷將5-(2-氫氧乙基)-尿嘧啶取代氫氧基形成溴化物,再用飽和氨甲醇溶液形成含氧五環結構,最後利用親核開環溴化反應將放射性溴同位素標誌上形成[Br*]BEDU **14**。

BVDU是一個著名的抗疱疹病毒藥物,它同時也是胸腺嘧啶核苷的類似物。因此,[Br*]BVDU **12**作為一種HSVtk的基因探針頗具潛力。式八^{47,57}和式九⁶⁸表示

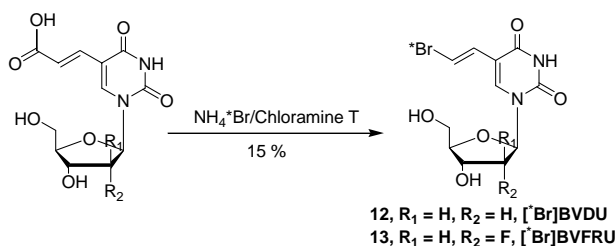
[Br*]BVDU **12**的製備方法,其一是利用羧酸官能基置換溴達成,其二是透過三正丁基有機錫置換溴來達到目的;製備羧酸官能基的前驅物並不需要將五碳糖的氫氧基保護,然而製備三正丁基有機錫的前驅物必須將五碳糖的氫氧基保護。BVDU的缺點在於鹼基和五碳糖的鍵結在生物體中不穩定,透過氟的修飾,[Br*]BVFRU **13**不僅穩定,生物活性也很理想。[Br*]BVFRU **13**的製備方法可以仿照[Br*]BVDU **14**(式九)⁶⁸。



式七



式八



式九

(三) 放射性碘

放射性碘核種的同位素有數種，包括碘—122、碘—123、碘—124、碘—125、碘—131^{45, 46, 47}；在這些同位素中，能夠放出正電子的有碘—122 和碘—124^{46, 47}。碘—122 雖然有良好的正子放射百分比，但是它的半化期太短，不到 4 分鐘⁴⁶，而碘—124 的半化期是 4 天^{46, 47}，較適合作為一種核醫藥物的正子放射核種。碘—125 的半化期有 60 天^{46, 47}，半化期太長，完全不適合作為一個活體造影的放射性核種，不過它很適合體外生化分析用⁴⁵。碘—131 的半化期有 8 天^{46, 47}，嚴格說來其半化期也是過長，況且碘—131 較高的貝他射線能量會增加病人的輻射劑量⁴⁵。至於碘—123，其半化期約有 14 小時，但是在製備過程中易被碘—124 污染而降低其解析度⁴⁵。以放射線模式而言，碘—124 是一種適合的元素，可用在正電子造影的藥物上，美中不足的是，碘—碘化學鍵的穩定度使得碘作為一種放射性核種似乎略遜於氟。因此在活體中，緩慢的分解副反應會使注入人體的核醫藥物失去原有的生化活性；然而，對於需要較長時間的造影而言，碘—124 的較長半化期卻是一大優勢⁴⁵。本文所列的 27 種 HSV tk 基因探針中，放射線碘化藥物佔了 7 種，製備方法皆與溴化藥物相似，其化學結構設計的原理是利用碘和胸腺嘧啶之五號碳的甲基有類似的凡得瓦爾半徑^{47, 48, 49}，其標誌的方法不外乎利用氧化劑先將碘氧化成帶正一價電荷，再進行親電子取代反應；氧化劑包括硝酸(式十⁶⁷)、雙氧水(式十一^{69, 70}、式十二⁷¹⁻⁷³)、Chloramine T (CAT)(式十⁶⁷)。

以標誌起始物的類型而言，碘標誌反應可以區分為兩種：直接標誌和間接標誌。

(1) 直接標誌：

起始物為沒有五號碳甲基的尿嘧啶類似物，氧化態的碘進行親電子取代置換鹽基五號碳上的氫，為了避免含氮鹼基和五碳糖的斷鍵，最常使用五碳糖二號碳上氟

取代氫或阿拉伯糖作為起始物和目標產物⁶⁷。因為此種標誌方法沒有保護和去保護的過程，且也沒有利用一些特殊的官能基，故稱之為直接標誌(式十⁶⁷)，然而，這類型的標誌產率一般不高，約低於 50%。

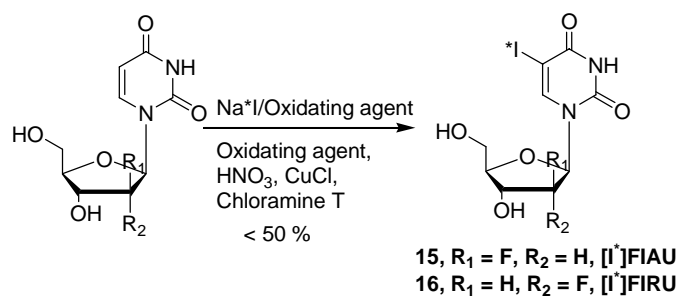
(2) 間接標誌：

這種標誌方式須要製備一些容易被置換的官能基於乙烯基上，包括三甲基有機錫基(式十一^{69, 70})、三丁基有機錫基(式十二⁷¹⁻⁷³)、三甲基有機矽基(式十三^{74, 75})；製備這些有機錫或有機矽化物，必須先引入非放射線的碘基，以用作後續之 Heck coupling reaction。有機錫反應需要將五碳糖的氫氧基保護後才能進行反應，有機矽則否；然而，有機錫置換放射碘同位素的反應產率比有機矽高出許多。利用一些有機金屬的前驅物進行放射線標誌的反應，其優點是標誌過程快速且產率很高，約 99%；而前驅物可以事先製備儲存。

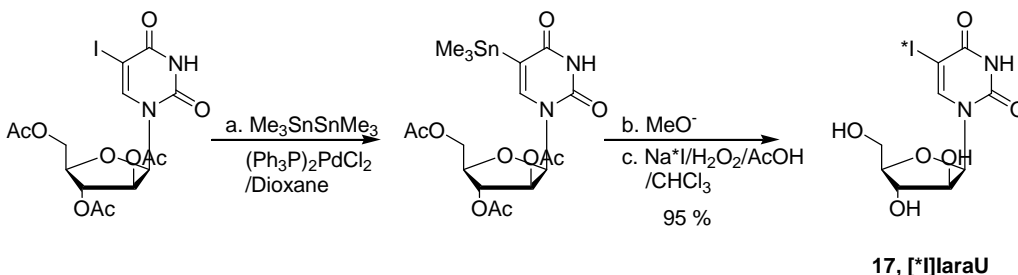
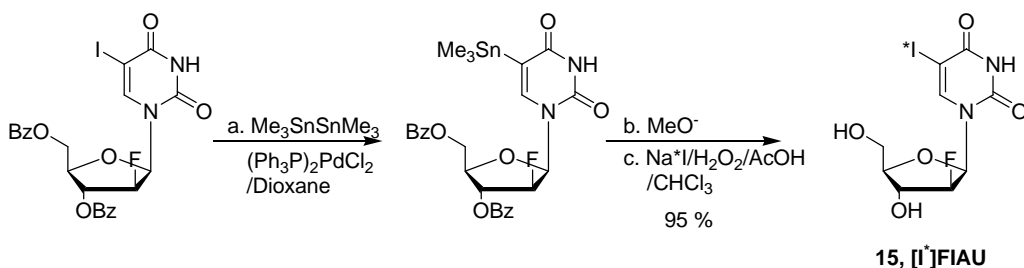
到目前為止，製備[^{*}I]VDU 18、[^{*}I]VFAU 19、[^{*}I]VFRU 20、[^{*}I]VVaraU 21 都是要利用乙烯基上容易被置換的官能基來達成。這些有機錫或有機矽之放射藥物前驅物，甚至包括 5-(三甲基有機錫)之阿拉伯糖化尿嘧啶苷，幾乎都會使用到鈹金屬的催化反應(式十一^{69, 70}、式十二⁷¹⁻⁷³、式十三^{74, 75})。

未來和展望

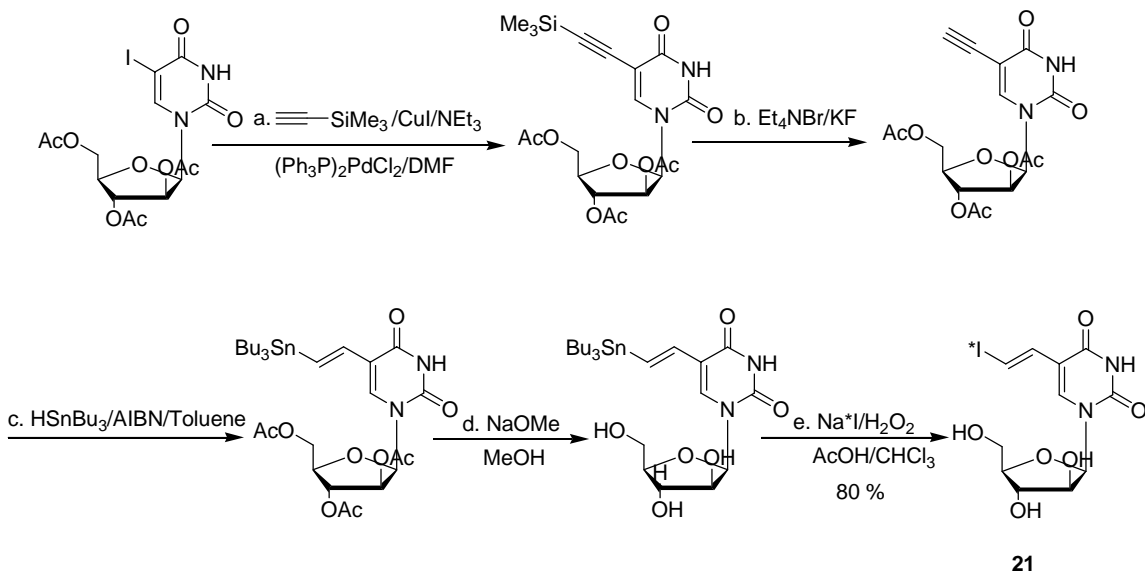
在癌症基因治療的策略之下，HSV tk 具有很大的發展潛力；它本身不但是自殺基因，而且還是報導基因，這對當前癌症治療普遍採用雞尾酒療法而言十分有利，因為只要用 HSV tk 一種基因就可以達到治療和追蹤治療的效果；除此之外，利用啟動子相同化的作法亦可以使 HSV tk 成為追蹤其它種類基因治療的報導基因。



式十



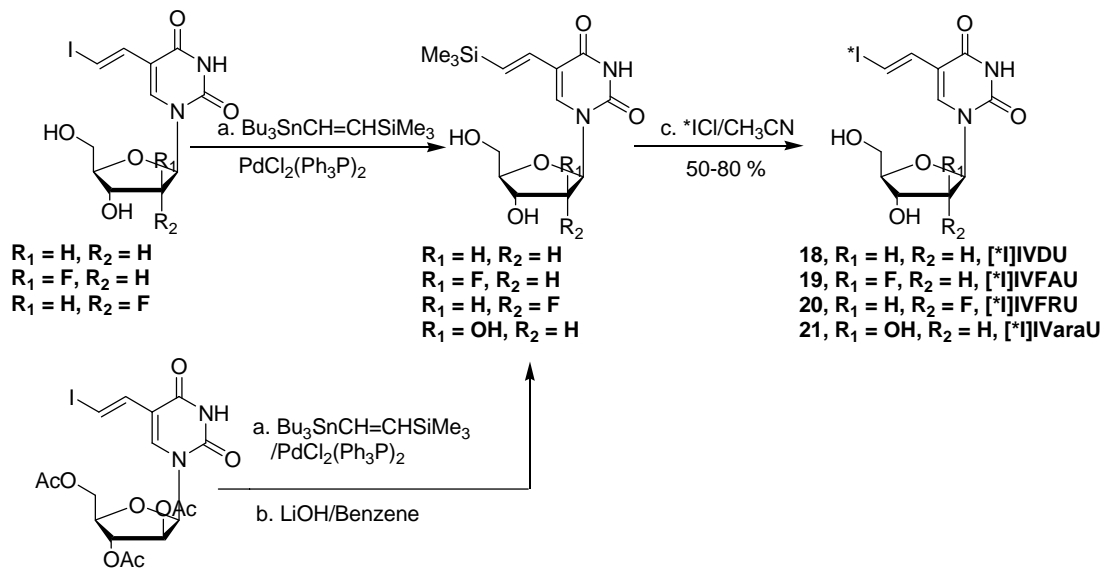
式十一



式十二

有機合成和放射化學的配合可以大大幫助放射性藥物研發並加速臨床試驗。目前所有的 HSV tk 之放射性藥物中，FIAU 是最常被研究的一種藥物¹，[*I]FIAU 帶動了癌症基因治療的發展。雖然如此，尚有許多放射性藥物尚未分析研究，它們的潛力有待發掘，例如，FIRU

在製備步驟上就比 FIAU 佔優勢¹。在癌症治療的領域中，自殺基因治療和基因治療的追蹤非常需要各種領域的專家學者齊力研發，如有機化學家、放射化學家、分子生物學家和醫生，相信在不久的將來，必會為癌症治療帶來一線曙光。



式十三

致 謝

感謝國科會的經費補助(NSC-94-2113-M-007-005)。

參考文獻

- Erik F.J. de Vries; Anne Rixt Buursma; Geke A.P. Hospers; Nanno H. Mulder; Willem Vaalburg1 *Curr. Pharm. Des.* **2002**, 8, 1435.
- Friedmann, T. *Ann. Med.* **1997**, 29, 575.
- Anderson, W.F. *Nature* **1998**, 392, 25.
- Rosenberg, S.A.; Aebersold, P.; Cornetta, K.; Kasid, A.; Morgan, R.A.; Moen, R.; Karson, E.M.; Lotze, M.T.; Yang, J.C.; Topalian, S.L. *N. Engl. J. Med.* **1990**, 323, 570.
- Freeman, S.M.; McCune, C.; Robinson, W.; Abboud, C.N.; Abraham, G.N.; Angel, C.; Marrogi, A. *Hum. Gene Ther.* **1995**, 6, 927.
- Oldfield, E.H.; Ram, Z.; Culver, K.W.; Blaese, R.M.; DeVroom, H.L.; Anderson, W.F. *Hum. Gene Ther.* **1993**, 4, 39.
- Greco, O.; Dachs, G.U. *J. Cell Physiol.* **2001**, 187, 22.
- Marchisone, C.; Pfeffer, U.; Del Grosso, F.; Noonan, D.M.; Santi, L.; Albini, A. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **2000**, 19, 261.
- Vassaux, G.; Martin-Duque, P. *Exp. Opin. Biol. Ther.* **2004**, 4, 519-530.
- Shimizu, K.; Ren, L.; Ayusawa, D.; Seno, T.; Balzarini, J.; De Clercq, E. *Cell Struct. Funct.* **1986**, 11, 295.
- Degre`ve, B.; De Clercq, E.; Balzarini, J. *Gene Ther* **1999**, 6, 162.
- Huber, B.E.; Richards, C.A.; Krenitsky, T.A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1991**, 88, 8039.
- Johansson, M.; van Rompay, A. R.; Degre`ve, B.; Balzarini, J.; Karlsson, A. *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 23814.
- Cheng, Y.C.; Grill, S.P.; Dutschman, G.E.; Nakayama, K.; Bastow, K.F. *J. Biol. Chem.* **1983**, 258, 12460.
- Mar, E.C.; Chiou, J.F.; Cheng, Y.C.; Huang, E.S. *J. Virol.* **1985**, 53, 776.

16. Balzarini, J.; De Clercp, E.; Verbruggen, A.; Ayusawa, D.; Shimizu, K.; Seno, T. *Mol. Pharmacol.* **1987**, *32*, 410
17. Balzarini, J.; Bohman, C.; Walker, R. T.; De Clercp, E. *Mol. Pharmacol.* **1994**, *45*, 1253
18. Balzarini, J.; Clercp, E. D.; Ayusawa, D.; Seno, T. *FEBS Lett.* **1985**, *185*, 95
19. Balzarini, J.; Bohman, C.; De Clercq, E. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 6332.
20. Moolten, F.L. *Cancer Res.*, **1986**, *46*, 5276.
21. Izquierdo, M.; Martin, V.; de Felipe, P.; Izquierdo, J.M.; Perez-Higueras, A.; Cortes, M.L.; Paz, J.F.; Isla, A.; Blazquez, M.G. *Gene Ther.*, **1996**, *3*, 491.
22. Ram, Z.; Culver, K.W.; Oshiro, E.M.; Viola, J.J.; DeVroom, H.L.; Otto, E.; Long, Z.; Chiang, Y.; McGarrity, G.J.; Muul, L.M.; Katz, D.; Blaese, R.M.; Oldfield, E.H. *Nat. Med.*, **1997**, *3*, 1354.
23. Klatzmann, D.; Valery, C.A.; Bensimon, G.; Marro, B.; Boyer, O.; Mokhtari, K.; Diquet, B.; Salzman, J.L.; Philippon, J. *Hum. Gene Ther.*, **1998**, *9*, 2595.
24. Shand, N.; Weber, F.; Mariani, L.; Bernstein, M.; Gianella-Borradori, A.; Long, Z.; Sorensen, A.G.; Barbier, N. *Hum. Gene Ther.*, **1999**, *10*, 2325.
25. Wu, N.; Ataa, M. M. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2000**, *11*, 205
26. Robbin, P. D.; Ghivizzani, S. C. *Pharmacol. Ther.* **1998**, *80*, 35
27. Rudin, M.; Weissleder, R. *Nature Rev. Drug Discov.* **2003**, *2*, 123
28. Bremer, C.; Ntziachristos, V.; Weissleder, R. *Eur. Radiol.* **2003**, *13*, 231.
29. Ntziachristos, V.; Bremer C.; Weissleder, R. *Eur Radiol* **2003**, *13*, 195
30. Sharma, V.; Luker, G. D.; Worms, D. P. *J. Magn. Reson. Imaging* **2002**, *16*, 336.
31. Contag, C. H.; Ross, B. D. *J. Magn. Reson. Imaging* **2002**, *16*, 378.
32. Bremer, C.; Weissleder, R. *Acad Radiol* **2001**, *8*, 15.
33. Michael E. P. *J. Nucl. Med.* **2000**, *41*, 661
34. Kim, E. E.; Yang, D. J. *Targeted Molecular Imaging in Oncology* Springer, **2001**
35. Blankenberg, F. G. *J. Cell. Biochem.* **2003**, *90*, 443.
36. Artemov, D. *J. Cell. Biochem.* **2003**, *90*, 518.
37. Ross, B. D.; Chenevert, T. L.; Rehemtulla, A. *Eur. J. Cancer* **2002**, *38*, 2147.
38. Blankenberg, F. G.; Strauss, H. W. *J. Magn. Reson. Imaging* **2002**, *16*, 352.
39. Dayton, P. A.; Ferrara, K. W. *J. Magn. Reson. Imaging* **2002**, *16*, 362
40. Aime, S.; Cabella, C.; Colombatto, S.; Crich, S. G.; Gianolio, E.; Maggioni, F. *J. Magn. Reson. Imaging* **2002**, *16*, 394.
41. Padhani, A. R. *J. Magn. Reson. Imaging* **2002**, *16*, 407.
42. Benaron, D. A. *Cancer Metastasis Rev.* **2002**, *21*, 45.
43. Luker, G. D.; Piwnica-Worms, D. *Acad Radiol* **2001**, *8*, 4.
44. Mangner, T. J.; Klecker, R. W.; Anderson, L.; Shields, A. F. *Nucl. Med. Biol.* **2003**, *30*, 215.
45. Saha, G. B. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy 4th ed.*, Springer **1998**
46. Ehmann, W. D.; Vance, D. E. *Radiochemistry And Nuclear Methods of Analysis*, John Wiley, **1991**
47. Yu, C. S. *Ph. D. Thesis*, Heidelberg University **1999**
48. March, J. *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure 3rd ed.*, John Wiley & Sons: New York, **1992**
49. Oberhammer, H. *Supplement D2. The Chemistry of halides, Pseudo-halides and azides, Part 1 1st ed.*, John Wiley & Sons: Chichester, **1995**
50. Desgranges, C.; Razaka, G.; Rabaud, M.; Bricaud, H.; Balzarini, J.; De Clercq, E. *Biochem. Pharmacol.* **1983**, *32*, 3583.
51. Iwashina, T.; Tovell, D.R.; Xu, L.; Tyrrell, D.L.; Knaus, E.E.; Wiebe, L.I. *Drug Des. Deliv.*, **1988**, *3*, 309.
52. Tovell, D.R.; Samuel, J.; Mercer, J.R.; Misra, H.K.; Xu, L.; Wiebe, L.I.; Tyrrell, D.L.; Knaus, E.E. *Drug Des. Deliv.*, **1988**, *3*, 213.
53. Alauddin, M. M.; Shahinian, A.; Ryan, P.; Tohme, M.; Fissekis, J. D.; Conti, P. S. *Nucl. Med. Biol.* **2004**, *31*, 399
54. Mangner, T. J.; Klecker, R. W.; Anderson, L.; Shields, A. F. *Nucl. Med. Biol.* **2003**, *30*, 215.
55. Alauddin, M. M.; Conti, P. S.; Fissekis, J. D. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2003**, *46*, 285.
56. Alauddin, M. M.; Conti, P. S.; Fissekis, J. D. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2002**, *45*, 583.
57. Yu, Chung-Shan; Eisenbarth, Joseph; Runz, Armin; Weber, Klaus; Zeisler, Stephan; Oberdorfer, Franz. *J.*

- Labelled Compd. Radiopharm.* **2003**, *46*, 421.
58. Raic´-Malic´, S.; Johayem, A.; Ametamey, S. M.; Batinac, S.; De Clercq, E.; Folkers, G.; Scapozza, L. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2004**, *23*, 1707.
59. Wang, J. Q.; Zheng, Q. H.; Fei, X.; Liu, X.; Gardner, T. A.; Kao, C.; Raikwar, S. P. Glick-Wilson, B. E.; Sullivan, M. L.; Mock, B. H.; Hutchins, G. D. *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 917.
60. Zheng, Q. H.; Wang, J. Q.; Liu, X.; Fei, X.; Mock, B. H.; Glick-Wilson, B. E.; Sullivan, M. L.; Raikwar, S. P.; Gardner, G. A.; Kao, C.; Hutchins, G. D. *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 689.
61. Shiuea, G. G.; Shiuea, C.-Y.; Lee, R. L.; MacDonald; Hustinx, D. R.; Eckc, S. L. Alavia, A. A. *Nucl. Med. Biol.* **2001**, *28*, 875.
62. Ponde, D. E.; Dence, C. S.; Schuster, D. P.; Welch, M. J. *Nucl. Med. Biol.* **2004**, *31*, 133.
63. Alauddin, M. M.; Conti, P. S. *Nucl. Med. Biol.*, **1998**, *25*, 175.
64. Wang, J. Q.; Zheng, Q. H.; Fei, X.; Mock, B. H.; Hutchins, G. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3933.
65. Grote, M.; Noll, S.; Noll, B.; Johannsen, B.; Kraus, W. *Can. J. Chem.* **2004**, *82*, 513.
66. Namavari, M.; Barrio, J. R.; Toyokuni, T.; Gambhir, S. S.; Cherry, S. R.; Herschman, H. R.; Phelps, M. E.; Satyamurthy, N. *Nucl. Med. Biol.* **2000**, *27*, 157.
67. Misra, H. K.; Knaus, E. E.; Wiebe, L. I.; Tyrrell, D. L. *Appl. Radiat. Isot.* **1986**, *37*, 901.
68. Iwashina, T.; Knaus, E. E.; Wiebe, L. I.; Lorne Tyrrell, L. D.; Tovell, D. R. *Appl. Radiat. Isot. Inr. J. Radiat. Appl. Insrum. Part A* **1990**, *41*, 675.
69. Yu, C.-S.; Chiang, L.-W.; Wu, C.-H.; Wang, R.-T.; Wang, H.-Y.; Yeh, C.-H. *Nucl. Med. Biol.* **2006**, *XX-XX*. In Press.
70. Vaidyanathan, G.; Michael R. Zalutsky, M. R. *Nucl. Med. Biol.* **1998**, *25*, 487.
71. Yu, C.-S.; Wu, C.-H.; Chiang, L.-W.; Wang, R.-T.; Wang, H.-Y.; Yeh, C.-H.; Lin K.-I. *Chem. Lett.* **2005**, *12*, 1390
72. Dougan, H.; Rennie, B. A.; Lyster, D. M.; Sacks, S. L. *Appl. Radiat. Isot.* **1994**, *45*, 795
73. Corey, E. J.; Wollenberg, R. H. *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 3788.
74. Robins, M. J.; Manfredini, S.; Wood, S. G.; Wanklin, R. J.; Bruce A. Rennie, B. A.; Sacks, S. L. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2275.
75. Morin, K. W.; Atrazheva, E. D.; Knaus, E. E.; Wiebe, L. I. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2184.

Synthesis of Radiolabeled Nucleoside Analogs for Probing Cancer Gene Therapy

Li-Wu Chiang, Jem-Mau Lo, Chung-Shan Yu*

Department of Biomedical Engineering and Environmental Sciences, Hsinchu,
National Tsing-Hua University

Abstract

Cancer gene therapy is a promising strategy for treatment of cancer. The mechanism underlying the therapy starts by delivering the suicide gene into the target cells, followed by administering the prodrugs. To optimize the therapeutic effect, an adequate genetic probe labeled by radioisotope need to be developed. Positron emission tomography (PET) and single photon emission computed tomography (SPECT) are two representative modalities for imaging radiolabeled compounds. Various radiolabeled nucleosides have been prepared via radiolabeling of the adequate precursors with positron- or γ -emitters, e.g. ^{18}F , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{80}Br , ^{123}I , ^{124}I , or ^{131}I . Both electrophilic halodestannylation and nucleophilic halogenation have been discussed. These radiolabeled compounds play a crucial role in accelerating the clinical trial for cancer gene therapy.

Key words: Cancer gene therapy, genetic probe, nucleoside analogs, radiohalogenation, positron emission tomography, single photon emission computer tomography, HSV-1 TK