

CNIC-01191

IAE-0172



CN9702580

中国核科技报告

CHINA NUCLEAR SCIENCE
AND TECHNOLOGY REPORT

亲肿瘤显像剂 ^{99m}Tc (V) DMSA 一步法
药盒的制备及动物实验

THE PREPARATION FOR AN INSTANT KIT
OF ^{99m}Tc (V) DMSA AS A TUMOR-SEEKING
IMAGING AGENT AND ANIMAL EXPERIMENTATION

(In Chinese)



中国核情报中心
原子能出版社

China Nuclear Information Centre
Atomic Energy Press

VOL 28 No 2 4



李云龙：中国原子能科学研究院副研究员。1963年毕业于中国科学技术大学近代化学系放射化学专业。

Li Yunlong: Associate professor of China Institute of Atomic Energy. Graduated from Department of Modern Chemistry, China University of Science and Technology in 1963, majoring in radiochemistry.

CNIC-01191

IAE-0172

亲肿瘤显像剂 ^{99m}Tc (V) DMSA 一步法 药盒的制备及动物实验

李云龙 李洪玉 景 慧 郭红源 刘英妹

(中国原子能科学研究院, 北京)

赵 晖

(中国科学院化学研究所, 北京)

摘 要

研制了 ^{99m}Tc (V) DMSA 一步法药盒, 从而避免了利用商品肾显像剂 DMSA 药盒改制时的繁琐手续, 使该制剂的制备过程简化、便于临床应用。pH 值对药盒的标记率有较大影响。仅当药盒的 pH 值为 8~8.5 时, 才有可能使 ^{99m}Tc (V) DMSA 的放化纯度高于 95%。 ^{99m}Tc (V) DMSA 的放化纯度用纸色层法检测。还考察了标记产物的体外稳定性以及温度、湿度、光照等因素对冻干品药盒稳定性的影响。 ^{99m}Tc (V) DMSA 在荷瘤 S180 小鼠体内分布实验结果指出, 该制剂在肿瘤组织中有积聚。静脉注药后 1~6 h, 肿瘤/肌肉、肿瘤/骨比值分别达到 1.4~2.4、1.2~1.8, 表明 ^{99m}Tc (V) DMSA 有亲肿瘤特性, 因而该制剂可用作亲肿瘤显像剂。

**The Preparation for an Instant Kit
of ^{99m}Tc (V) DMSA as a Tumor-Seeking
Imaging Agent and Animal Experimentation**
(In Chinese)

LI Yunlong LI Hongyu JING Hui GUO Hongyuan LIU Yingmei
(China Institute of Atomic Energy, Beijing)
ZHAO Hui
(Institute of Chemistry, The Chinese Academy of Sciences, Beijing)

ABSTRACT

A method for preparing an instant kit of ^{99m}Tc (V) DMSA was described. The effect of pH on labeling efficiency of the kit was investigated. ^{99m}Tc (V) DMSA was characterized by TLC on silicagel sheets, eluting with n-butanol : acetic acid : water = 3 : 2 : 3 (volume ratio). Radiochemical purity and stability of ^{99m}Tc (V) DMSA in vitro were studied. The results clearly demonstrated that the yield of ^{99m}Tc (V) DMSA was more than 95% at pH 8~8.5 and the agent was stable in 3 h at room temperature. Effect of temperature, moisture and luminosity on the stability of the freeze-dried kit were considered. The biological distributions of ^{99m}Tc (V) DMSA were measured in mice bearing tumor S180. The results indicated that during 1~6 h after i. v. injection, ^{99m}Tc (V) DMSA was highly uptaken in tumor tissue, the ratios of tumor : muscle and tumor : bone were in the ranges of 1.4~2.4 and 1.2~1.8, respectively. This peculiarity indicated that ^{99m}Tc (V) DMSA has tumor-seeking property and could be used as a tumor-seeking imaging agent.

^{99m}Tc (V) DMSA 是一种多核络合物,它在肿瘤组织中有较高的浓集^[1~3]。 ^{99m}Tc (V) DMSA 用于软组织肿瘤检查时,图像清晰、安全有效。对恶性软组织肿瘤诊断的灵敏度和特异性优于 ^{67}Ga -柠檬酸^[4],并适用于原发性肝癌及肝内转移癌的显像^[5]。

^{99m}Tc (V) DMSA 药盒可由肾显像剂 ^{99m}Tc (III) DMSA 药盒在 ^{99m}Tc 标记前经 pH 调制成为弱碱性 (pH8) 改造而得^[6,7],但制备过程较繁琐,不便于使用。为此,我们研制了 ^{99m}Tc (V) DMSA 一步法药盒,免除了 ^{99m}Tc 标记前的 pH 调制手续,简化了操作。还分别研究了标记过程中的影响因素、标记产物放化纯度检测、药盒的稳定性。 ^{99m}Tc (V) DMSA 在小鼠及荷 S180 瘤的小鼠体内分布实验结果表明, ^{99m}Tc (V) DMSA 在肿瘤组织中的浓聚率颇高。

1 实验部分

1.1 材料和仪器

二巯基丁二酸 (DMSA), m. p. 198~200℃。经 ^1H NMR, MS (FAB), UV, FT-IR 等谱图的测试和元素分析,确认产品为 meso-2, 3-二巯基丁二酸。 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 分析纯,美国 SIGMA 公司产品;水为去离子水,无菌无热原。其余试剂均为分析纯。

硅胶色层纸,上海造纸研究所生产;FT-603 井型闪烁探头和 FT-408 自动定标器,北京核仪器厂;医用 ^{99}Mo - ^{99m}Tc 发生器,中国原子能科学研究院产品。昆明种小白鼠,体重 18~20 g,雄性。荷 S180 瘤小鼠,中国医学科学院药物研究所提供。

1.2 实验方法

1.2.1 冻干品药盒的制备

每瓶冻干品中含 DMSA 1mg, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.2 mg, NaHCO_3 12 mg, 抗坏血酸 0.5 mg。按所需药盒数量,照上述组成按比例备料,配制成料液,并调 pH 值至 8~8.5,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后,按每份 1 ml 料液分装到无菌无热原青霉素小瓶中。经低温冻干,充氮气,封盖,于 2~8℃ 保存。

1.2.2 冻干品药盒的 ^{99m}Tc 标记

向冻干品药盒中注入新鲜 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 淋洗液 1~3 ml,轻摇,使内容物全溶,室温放置。

1.2.3 标记产物的放化纯度分析

以硅胶色层纸 (1.5 cm×15 cm) 为载体,正丁醇:冰乙酸:水=3:2:3 (v/v) 混合液为展开剂,作上行色层展开^[2,3]。当展开至 10 cm 时,取出纸条并干燥,分段测量放射性活度,计算 R_f 值。

1.2.4 ^{99m}Tc (V) DMSA 体外稳定性检测

冻干品药盒经 ^{99m}Tc 标记后置室温下,于不同时间取样作纸上层析,测定标记产物中 ^{99m}Tc (V) DMSA 的放化纯度随放置时间的变化。

1.2.5 特殊环境中冻干品药盒稳定性考察

将冻干品药盒分别置于不同温度 (2~8℃、20~25℃);不同相对湿度 (50%~60%, 75% 和 92%);及光照 (2258 Lx) 条件下存放不同时间后再进行 ^{99m}Tc 标记,测定主产物 ^{99m}Tc (V) DMSA 的放化纯度 (%)。

1.2.6 动物实验

1.2.6.1 小白鼠体内分布实验

取体重 18~20 g 昆明种雄性小白鼠 15 只, 分 5 组, 每组 3 只, 自尾静脉分别注入 0.1 ml ^{99m}Tc (V) DMSA (约含 ^{99m}Tc 111×10^3 Bq, DMSA 0.3 μg)。于注药后 1, 2, 3, 6, 24 h 分别摘眼球取血、断颈椎处死。解剖取肺、肝、胃、脾、骨、肌肉和肠, 称重, 测其放射性活度, 计算出每克血或脏器中放射性活度占注入放射性总活度的百分数。

1.2.6.2 Sn (I) DMSA 冻干品药盒的异常毒性检查

异常毒性检查按文献 [8] 方法进行。取健康雄性昆明种小白鼠 5 只, 体重 18~20 g, 自尾静脉注入 0.5 ml Sn (I) DMSA 生理盐水溶解液 (含 DMSA 84 μg), 其剂量相当于正常人体 (70 kg) 用药量的 300 倍。正常饲养, 观察 48 h。

1.2.6.3 荷 S180 肉瘤小鼠体内分布试验

自每只受试荷 S180 肉瘤小鼠尾静脉注入 0.1 ml ^{99m}Tc (V) DMSA (约含 ^{99m}Tc 111×10^3 Bq, DMSA 0.3 μg), 注药后 1, 2, 3, 6, 24 h 分别先摘除眼球取血, 继而断颈处死, 解剖后取肺、肝、胃、肾、脾、骨、肌肉、肠; 称重, 测量放射性活度, 计算出每克血或脏器放射性活度占注入放射性总活度的百分数。

2 结果和讨论

2.1 ^{99m}Tc (V) DMSA 的放化纯度及其体外稳定性检测

DMSA 一步法冻干药盒经 ^{99m}Tc 标记后, 用上行纸层法鉴定^[2,3], 各成分的 R_f 值如表 1 所示。

表 1 ^{99m}Tc 标记产物中各成分的 R_f 值

	^{99m}Tc (N) DMSA	^{99m}Tc (V) DMSA	$^{99m}\text{TcO}_4^-$
R_f	≈ 0	0.4~0.6	0.8~1

将标记产物在室温放置 5~180 min, 分别测定 ^{99m}Tc (V) DMSA 标记率 (%), 结果示于表 2。表 2 中的结果指出, 室温下放置 10~180 min 内 ^{99m}Tc (V) DMSA 是稳定的, 并且 ^{99m}Tc (V) DMSA 的标记率均高于 95%。

表 2 ^{99m}Tc (V) DMSA 的标记率随放置时间的变化

	放置时间/min					
	5	10	30	60	120	180
^{99m}Tc (V) DMSA/%	93.8	97.0	97.9	97.0	96.4	95.2

2.2 标记过程中 pH 值对 ^{99m}Tc (V) DMSA 标记率的影响

冻干品药盒先用 3 ml 生理盐水溶解, 继用适量 1 mol/L HCl 或 3.5% NaHCO_3 溶液分别调制成不同 pH 值 (4.0~9.0) 后, 再用适量 ^{99m}Tc 标记, 测得各 pH 值时标记产物中 ^{99m}Tc (V) DMSA 的放化纯度, 结果列于表 3。结果指出, 标记过程中 pH 值对 ^{99m}Tc (V) DMSA 的放化纯度有较大影响。仅当 pH 8~9 时, 标记产物中才能获得 97% 以上的 ^{99m}Tc (V) DMSA。微碱性是制备 ^{99m}Tc (V) DMSA 最好的条件, 这与文献 [3, 4] 的报道是一致的。

表 3 pH 值对 ^{99m}Tc (V) DMSA 放化纯度的影响

	pH				
	4.0	5.5	7.5	8.0	9.0
^{99m}Tc (V) DMSA/%	28.1	58.2	93.6	97.9	97.4

2.3 ^{99m}Tc 的活度对生成 $^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{DMSA}$ 的影响

向 $\text{Sn}(\text{I})\text{DMSA}$ 冻干药盒中加入不同活度 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 淋洗液进行标记, 用纸层法测定标记产物中 $^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{DMSA}$ 的放化纯度, 结果列于表 4。

表 4 ^{99m}Tc 的活度对生成 $^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{DMSA}$ 的影响

	$^{99m}\text{Tc}/\text{MBq}/\text{ml}$					
	181	418	677	1365	2574	3926
$^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{DMSA}/\%$	97.1	95.4	98.7	96.5	94.9	93.6

实验结果表明, 标记时以加入 (181~1365) MBq/mL ^{99m}Tc 为宜, 所得标记产物中 $^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{DMSA}$ 的放化纯度大于 95%。当 ^{99m}Tc 的浓度增至 3926 MBq/mL 时, 产物中 $^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{DMSA}$ 的百分含量略有下降。

2.4 冻干品药盒的稳定性

冻干品药盒在不同温度 (2~8℃, 25~28℃); 相对湿度 (50%~60%, 75%, 92%); 光照 (2258 Lx) 环境中保存不同时间后再作 ^{99m}Tc 标记, 并测定主产物 $^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{DMSA}$ 的放化纯度, 结果分别列于表 5~9 中。

表 5 $\text{Sn}(\text{I})\text{DMSA}$ 冻干品药盒在 2~8℃ 的稳定性

保存时间/d	3	42	80	123
$^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{DMSA}/\%$	96.2	95.8	97.0	95.1

表 6 $\text{Sn}(\text{I})\text{DMSA}$ 冻干品药盒在 2~8℃, 50%~60%RH 的稳定性

保存时间/d	3	65	80	123
$^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{DMSA}/\%$	95.4	97.1	97.3	94.1

表 7 $\text{Sn}(\text{I})\text{DMSA}$ 冻干品药盒在 25~28℃, 75%RH 的稳定性

保存时间/d	2	13	21	65
$^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{DMSA}/\%$	99.0	98.0	98.1	96.5

表 8 $\text{Sn}(\text{I})\text{DMSA}$ 冻干品药盒在 25~28℃, 92%RH 的稳定性

保存时间/d	2	13	21	65
$^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{DMSA}/\%$	97.6	97.6	96.5	85.1

表 9 $\text{Sn}(\text{I})\text{DMSA}$ 冻干品药盒经 2258 Lx 光照后的稳定性

光照时间/d	2	19	42
$^{99m}\text{Tc}(\text{V})\text{DMSA}/\%$	96.3	96.8	94.2

实验结果表明, 冻干品药盒在 2~8℃ 可保存约 4 个月, 在 25~28℃、75%RH 环境中可保存 2 个月, 主产物的放化纯度均大于 95%。湿度高不利于药盒的保存, 室温下 2258Lx

光照约一个月,对冻干品药盒的稳定性无明显影响。实验结果表明,在低温、低湿、避光环境中,该种冻干品药盒可保存约3个月。

2.5 动物实验

2.5.1 Sn (I) DMSA 的异常毒性检验

注射了 Sn (I) DMSA 作异常毒性检验的5只小鼠,正常饲养。据48 h观察,受试小鼠均健康活泼无一死亡,表明使用该药盒是安全的。

2.5.2 ^{99m}Tc (V) DMSA 在小鼠体内的分布

^{99m}Tc (V) DMSA 在正常小鼠及荷瘤 (S180) 小鼠体内不同时相的分布,实验结果分别列于表10,11。

表10 ^{99m}Tc (V) DMSA 在小鼠体内的分布 ($\bar{X} \pm s$, $n=3$) ID%/g 组织

组织	注药后时间/h				
	1	2	3	6	24
血	1.86±0.30	1.61±0.27	0.84±0.41	0.57±0.09	0.18±0.03
肺	1.20±0.24	1.13±0.20	0.59±0.05	0.82±0.33	0.50±0.06
肝	1.25±0.29	1.05±0.34	1.05±0.11	0.96±0.16	0.29±0.00
胃	1.76±0.36	2.20±0.36	1.65±0.36	1.25±0.28	0.44±0.08
肾	7.16±0.92	7.02±0.63	7.39±0.18	6.17±0.65	3.67±1.60
脾	0.49±0.06	0.63±0.16	0.34±0.04	0.37±0.11	0.52±0.04
骨	13.08±4.34	9.82±1.96	4.55±1.63	4.99±2.30	3.25±0.73
肌肉	0.75±0.30	0.66±0.22	0.56±0.25	1.13±0.87	0.95±0.24
肠	0.77±0.12	0.78±0.15	0.70±0.29	0.45±0.06	0.44±0.05

表11 ^{99m}Tc (V) DMSA 在荷瘤 (S180) 小鼠体内分布 ($\bar{X} \pm s$, $n=3$) ID%/g 组织

组织	注药后时间/h				
	1	2	3	6	24
血	8.01±0.55	6.43±0.62	6.67±0.43	3.88±0.56	0.40±0.09
肺	5.01±0.24	3.60±0.58	3.76±0.08	2.46±0.23	0.46±0.05
肝	3.71±0.15	3.05±0.17	3.87±0.20	3.19±0.19	0.88±0.27
胃	25.89±0.45	38.45±0.42	42.68±5.01	26.49±1.00	8.10±2.70
肾	3.18±0.06	4.87±1.06	3.43±0.28	2.45±0.12	1.00±0.18
脾	2.09±0.03	1.69±0.12	1.48±0.02	1.06±0.14	0.16±0.05
骨	2.92±0.30	2.02±0.04	1.56±0.07	1.20±0.33	0
肌肉	1.67±0.37	2.12±0.63	1.26±0.05	0.92±0.06	0.02±0.02
肠	4.30±0.58	4.11±0.98	4.14±1.20	2.51±0.63	0.84±0.67
肿瘤	3.36±0.62	2.90±0.26	2.80±0.38	2.21±0.17	0.68±0.04

由表10结果可见, ^{99m}Tc (V) DMSA 在正常小鼠的骨、肾、胃组织中分布较集中。注药后1 h,分别达注入量的13.08%/g、7.16%/g和1.76%/g。在荷瘤 (S180) 小鼠体内分布 (表11) 指出, ^{99m}Tc (V) DMSA 除较集中于胃、肾外,在骨中的分布稍有减少;而在肿瘤组织中呈现出积聚,且能滞留较长时间。注药后1~6 h内,肿瘤中积聚的 ^{99m}Tc (V)

DMSA 为 2.21~3.36 ID%/g。肿瘤/肌肉和肿瘤/骨比值分别达到 1.4~2.4 和 1.2~1.8, 表明^{99m}Tc(V) DMSA 在肿瘤中有较多浓聚; 在注药后 1~6 h 内即可达到较理想的显像状态而无需像⁶⁷Ga-柠檬酸那样在注药后必须等待 24~72 h 方能达理想显像状态^[1,9], 因而这将给临床使用带来方便。

3 结论

(1) ^{99m}Tc(V) DMSA 一步法药盒制备过程中 pH 值对主产物的放化纯度有较大影响。为获得较好质量的药盒, 制备时料液需保持微碱性 (pH 8~9)。

(2) 荷瘤小鼠体内分布实验结果指出, 注药后 1~6 h, ^{99m}Tc(V) DMSA 在瘤体内有较多积聚; 肿瘤/肌肉, 肿瘤/骨比值颇高, 因而^{99m}Tc(V) DMSA 可用作亲肿瘤显像剂。

参考文献

- 1 Yokoyama A, Hata N, Saji H, et al. Chemically designed ^{99m}Tc Radiopharmaceuticals for the Tumor Diagnosis, ^{99m}Tc DMSA. J Nucl Med, 1981, 22 (6): 69
- 2 Ohta H, Yomamoto K, Endo K, et al. A New Imaging Agent for Medullary Carcinoma of the Thyroid. J Nucl Med, 1984, 25: 323
- 3 Yokoyama A, Hata N, Horiuchi K, et al. The Design of a Pentavalent ^{99m}Tc Dimercaptosuccinate Complex as a Tumor Imaging Agent. Int J Nucl Med Biol, 1985, 12: 273
- 4 匡安仁, ^{99m}Tc(V) DMSA——一种新的亲肿瘤显像剂, 国外医学, 放射医学/核医学分册, 1987, 11 (1): 34
- 5 李少林, 顾学先, 蔡宗祥, 等。肝脏肿瘤显像剂^{99m}Tc(V) DMSA 的应用, 核技术, 1994, 17 (5): 310
- 6 Ramamoorthy N, Shety SV, Pandey PM, et al. Preparation and Evaluation of ^{99m}Tc(V) DMSA Complex; Studies in Medullary Carcinoma of Thyroid. Eur J Med, 1987, 12: 623
- 7 蒋长英, 章英剑, 朱蓓玲。软组织肿瘤显像剂^{99m}Tc(V) —DMSA 的研制。核技术, 1988, 11: 16
- 8 中华人民共和国药典委员会编。中华人民共和国药典一九九五年版二部。北京: 化学工业出版社, 1995. 附录 75
- 9 谭天秩, 李林。肿瘤显像剂^{99m}Tc(V) —DMSA 药盒的研制。中华核医学杂志, 1990, 10: 43

图书在版编目 (CIP) 数据

中国核科技报告 CNIC-01191 IAE-0172: 亲肿瘤显像剂^{99m}Tc (V) DMSA 一步法药盒的制备及动物实验/李云龙等著. —北京: 原子能出版社, 1997. 10

ISBN 7-5022-1715-0

I. 中… I. 李… III. 核技术-研究报告-中国 N. TL-2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (97) 第 15234 号

亲肿瘤显像剂^{99m}Tc (V) DMSA 一步法药盒的制备及动物实验

李云龙等著

©原子能出版社, 1997

原子能出版社出版发行

责任编辑: 武洁

社址: 北京市海淀区阜成路 43 号 邮政编码: 100037

中国核科技报告编辑部排版

核科学技术情报研究所印刷

开本 787×1092 1/16 · 印张 1/2 · 字数 11 千字

1997 年 10 月北京第一版 · 1997 年 10 月北京第一次印刷

定价: 5.00 元

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.

ISBN 7-5022-1715-0



9 787502 217150 >