

## $^{188}\text{Re-DTPA-DG}$ 的制备 及其在荷瘤裸鼠体内的分布

陈跃<sup>1</sup>, 熊青峰<sup>1</sup>, 何菱<sup>2</sup>, 黄占文<sup>1</sup>, 郑时龙<sup>2</sup>, 李举联<sup>2</sup>, 秦大莲<sup>3</sup>

(1. 泸州医学院附属医院核医学科, 四川 泸州 646000; 2. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041;  
3. 泸州医学院附属药学院, 四川 泸州 646000)

**摘要:** 制备了 $^{188}\text{Re-DTPA-DG}$ , 并观察了其在荷 MCF-7 乳腺癌裸鼠体内的分布。 $^{188}\text{Re-DTPA-DG}$  制备时采用正交实验设计, 结果表明, 10 mg DTPA-DG, 100  $\mu\text{L}$  0.5 mol/L 葡萄糖酸钠溶液, 100~200  $\mu\text{L}$  370 MBq/mL 新鲜淋洗的高铼酸盐, 400  $\mu\text{L}$  pH 5.0 磷酸缓冲溶液, 4 mg  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 37  $^\circ\text{C}$  恒温箱中反应 3 h 为最佳标记条件。在此条件下, 放化纯度为 95%。标记物体外稳定性较好, 室温放置 6 h, 其放化纯度仍 >92%。 $^{188}\text{Re-DTPA-DG}$  在荷瘤裸鼠体内的分布结果显示, 其在肿瘤中的摄取较高, 静脉注射 $^{188}\text{Re-DTPA-DG}$  后 12 h, 肿瘤与周围肌肉的摄取比值(T/NT)高达 12.76, 显示出良好的肿瘤靶向性。

**关键词:**  $^{188}\text{Re-DTPA-DG}$ ; MCF-7 乳腺癌; 生物分布

中图分类号: TL92.3; R817-33 文献标识码: A 文章编号: 1000-7512(2007)01-0033-03

## Preparation and Biodistribution of $^{188}\text{Re-DTPA-DG}$ in Mice Bearing MCF-7

CHEN Yue<sup>1</sup>, XIONG Qing-feng<sup>1</sup>, HE Ling<sup>2</sup>, HUANG Zhan-wen<sup>1</sup>,  
ZHENG Shi-long<sup>2</sup>, LI Ju-lian<sup>2</sup>, QIN Da-lian<sup>3</sup>

(1. Department of Nuclear Medicine, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China;  
2. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China;  
3. School of Pharmacy, Luzhou Medical College, Luzhou Sichuan 646000, China)

**Abstract:** The preparation and biodistribution of  $^{188}\text{Re-DTPA-DG}$  in nude mice bearing MCF-7 mammary cancer cell are studied. The labeling process of DTPA-DG with  $^{188}\text{Re}$  is carried out under the conditions of 100-200  $\mu\text{L}$  370 MBq  $^{188}\text{ReO}_4^-$ , 400  $\mu\text{L}$  buffer solution (pH=5.0), 10 mg DTPA-DG, 100  $\mu\text{L}$  0.5 mol/L sodium gluconate, and 4 mg  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , and the reaction temperature and time is 37  $^\circ\text{C}$  and 3 h. DTPA-DG is labeled with  $^{188}\text{Re}$ , which radiochemical purity of  $^{188}\text{Re-DTPA-DG}$  is 95%. The biodistribution of  $^{188}\text{Re-DTPA-DG}$  in nude mice bearing MCF-7 mammary cancer cell shows that tumor-to-muscle ratio (T/NT) at 12 h post intravenous injection is 12.76.  $^{188}\text{Re-DTPA-DG}$  shows excellent tumor targeting.

**Key words:**  $^{188}\text{Re-DTPA-DG}$ ; MCF-7 mammary cancer; biodistribution

$^{18}\text{F-FDG}$  PET(正电子计算机断层显像)无  
创性检测肿瘤糖代谢, 在恶性肿瘤的早期诊断,

临床医生制定肿瘤治疗方案、疗效判断、预后评  
价等方面都发挥着重要的作用, 因此肿瘤代谢显

收稿日期: 2006-03-21; 修回日期: 2006-09-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(30670582); 四川省教育厅自然科学基金项目(2004B005); 四川省人事厅学术和技术带头人  
培养基金项目; 四川省科技厅应用基础基金项目

作者简介: 陈跃(1968~), 男(汉族), 四川富顺人, 教授(硕士), 影像医学与核医学专业

像成为分子显像的最重要内容。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$  和  $^{188}\text{Re}$  由于其优良核素性质及来源较方便,是目前广泛应用的 SPECT 显像用核素和极有潜力的治疗用核素。葡萄糖类似物 2-氨基葡萄糖胺(DG)用  $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$  和  $^{188}\text{Re}$  标记研究成为研究热点<sup>[1,2]</sup>。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -DTPA-DG 已经显示出具有较好肿瘤摄取<sup>[3~5]</sup>。本工作拟采用  $^{188}\text{Re}$  标记 DTPA-DG,并观察其在荷瘤裸鼠体内的生物分布。

## 1 主要实验材料

### 1.1 主要试剂

二乙三胺五乙酸(DTPA):Sigma 公司产品;葡萄糖胺盐酸盐:百灵威产品;葡萄糖酸钠:四川成都科龙化工试剂厂生产;磷酸二氢钠和碳酸氢钠:广东汕头西陇化工厂生产; $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ :成都生物试剂厂生产。以上试剂均为分析纯。 $^{188}\text{W}$ - $^{188}\text{Re}$  发生器:原子高科股份有限公司提供。DTPA-DG<sup>[5]</sup>:四川大学华西药学院合成并纯化。

新华 1 号层析纸:杭州新华纸业公司产品。以双蒸水配置 0.1 mol/L 盐酸及 0.2 mol/L 氢氧化钠。

乳腺癌 MCF-7 细胞株:四川大学华西医院人类疾病生物治疗教育部重点实验室培养。

### 1.2 主要仪器

SN-695 型自动  $\gamma$  免疫计数器:中国科学院上海应用物理研究所日环仪器厂产品;CRC-15R 活度计:美国 Capintec 公司产品;AB204-S 电子分析天平:瑞士 Mettler-Toledo 公司产品。

### 1.3 实验动物

周龄雄性 Balb/c 裸鼠:9 只,体重 18~20 g,三级,四川大学实验动物中心提供。

荷乳腺癌 MCF-7 裸鼠:此工作由四川大学实验动物中心完成。在 Balb/c 裸鼠左大腿皮下接种人乳腺癌 MCF-7 细胞株,细胞用量 0.2 mL,约含瘤细胞  $1 \times 10^7$  个。接种后约 2 周,肿瘤直径长至约 1.0 cm 时用于实验。

## 2 实验方法

### 2.1 DTPA-DG 的 $^{188}\text{Re}$ 标记与鉴定

采用五因素三水平正交实验设计,确定 DTPA-DG 用量(5、10、15 mg)、还原剂  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  用量(1、2、4 mg)、pH(4.5、5.0、5.5)、0.5 mol/L 葡萄糖酸钠溶液用量(0.1、0.2、0.3 mL)及反应温度(25、37、100  $^{\circ}\text{C}$ )的重要性及相互之间的配比。

采用纸层析法检测标记物的标记率和放化

纯度:新华 1 号层析纸作支持物,生理盐水和丙酮作展开剂。

### 2.2 $^{188}\text{Re}$ -DTPA-DG 在荷瘤裸鼠体内的分布

将 9 只荷瘤裸鼠分为 3 组,每组 3 只,经尾静脉注射 0.1 mL 约 3.7 MBq  $^{188}\text{Re}$ -DTPA-DG,注射后 3、12、24 h 断头处死裸鼠,取血、心、肺、肝、脾、肾、胃、小肠、肌肉、肿瘤等组织器官,称重并测其放射性计数,计算每克组织的放射性摄取百分数(%/g)及靶与非靶的放射性摄取比(T/NT)。

## 3 结果与讨论

### 3.1 DTPA-DG 的 $^{188}\text{Re}$ 标记

3.1.1 标记条件的优化 五因素三水平实验结果显示, $^{188}\text{Re}$  标记 DTPA-DG 的最佳条件为:DTPA-DG 用量为 10 mg、0.5 mol/L 葡萄糖酸钠溶液用量为 100  $\mu\text{L}$ 、100~200  $\mu\text{L}$  370 GBq/L 新鲜淋洗的高铈酸盐,400  $\mu\text{L}$  0.06 mol/L pH 5.5 磷酸缓冲溶液、4 mg  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,反应温度为 37  $^{\circ}\text{C}$ ,反应时间为 3 h。

生理盐水上行展开时, $^{188}\text{Re}$ -DTPA-DG 和  $^{188}\text{ReO}_4^-$  的  $R_f=0.9\sim 1.0$ , $^{188}\text{ReO}_2$  的  $R_f=0$ ;丙酮上行展开时, $^{188}\text{Re}$ -DTPA-DG 和  $^{188}\text{ReO}_2$  的  $R_f=0$ , $^{188}\text{ReO}_4^-$  的  $R_f=1.0$ 。由此计算得标记率为 90%,放化纯度为 95%。

弱络合剂葡萄糖酸钠溶液作为中间配体,一方面起稳定  $\text{Sn}^{2+}$  的作用,减少  $\text{Sn}^{2+}$  的水解;另一方面可与  $^{188}\text{Re}$  保持弱络合作用,使  $^{188}\text{Re}$  处于稳定低价状态,保证取代反应顺利进行。因此,用  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  做还原剂时,加入葡萄糖酸钠溶液可提高标记率。

与文献[5,6]中  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  用量 0.5 mg 和反应液的 pH 6.0 相比,本工作中  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  用量更大,为 4 mg;溶液的 pH 更低,为 5。这是由于  $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$  和  $^{188}\text{Re}$  虽然有相似的化学性质,但二者氧化潜力不同。若还原剂  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  的用量过大,胶体的生成量增加;而太少则不利于高铈酸盐的还原,降低标记率<sup>[7]</sup>。

3.1.2 标记物的稳定性 标记物于室温下放置 6 h 后,其放化纯度为 92.5%。说明  $^{188}\text{Re}$ -DTPA-DG 稳定性较好。

### 3.2 $^{188}\text{Re}$ -DTPA-DG 在荷瘤小鼠体内的分布

$^{188}\text{Re}$ -DTPA-DG 在荷瘤小鼠体内的分布列于表 1 和表 2。表 1 显示,注射后 3、12、24 h, $^{188}\text{Re}$ -DTPA-DG 均显示出较高的肿瘤摄取,分别达  $1.98 \pm 0.29$ 、 $2.89 \pm 0.43$  和  $0.42 \pm 0.06$  %·g<sup>-1</sup>;肾脏中的放射性较高,3、12、24 h 的放

射性摄取依次为  $1.94 \pm 0.25$ ,  $2.10 \pm 0.32$  和  $0.15 \pm 0.02\% \cdot g^{-1}$ ; 肝脏中放射性摄取也较高, 但下降也很快, 3 h 时为  $1.26\%/g$ , 12 h 时为  $0.53\%/g$ , 24 h 时已降至  $0.30\%/g$ ; 胃中无明显放射性分布, 肠道放射性也很低, 说明<sup>188</sup>Re-DTPADG 主要经泌尿系统排泄; 脑组织中放射性分布低, 12 h 时放射性摄取为  $0.17 \pm 0.03\% \cdot g^{-1}$ , 这可能是由于 DTPA-DG 为水溶性分子, 其相对分子质量较 FDG 大, 不易通过血脑屏障。

由表 2 可知, 肿瘤中的放射性摄取比明显高于血液、肺、肌肉、脑组织, 在注射后 12 h, 肿瘤与血液、肿瘤与肺、肿瘤与肌肉、肿瘤与脑的 T/NT 分别为 11.00、5.22、12.76、16.72。24 h 内肿瘤与血液、肿瘤与肌肉的 T/NT 均较高, 这表明<sup>188</sup>Re-DTPA-DG 的肿瘤靶向性较好。

#### 4 小 结

所制得的<sup>188</sup>Re-DTPA-DG 标记化合物放化纯度高(>95%), 体外稳定性较好。其在荷瘤鼠体内的分布表明, 主要被肿瘤、肝脏和肾脏摄取,

肝脏和肾脏中的放射性很快下降, 说明<sup>188</sup>Re-DTPA-DG 在荷瘤鼠体内主要经泌尿系统排泄。肿瘤与血液、肿瘤与脑、肿瘤与肌肉的 T/NT 均较高, 说明<sup>188</sup>Re-DTPA-DG 具有较好的肿瘤靶向性。<sup>188</sup>W-<sup>188</sup>Re 发生器洗脱的<sup>188</sup>Re 能发射最大能量 2.12 MeV 的  $\beta^-$  射线, 可引起生物大分子的损伤导致细胞凋亡, 因此, 可用于内照射治疗肿瘤<sup>[8]</sup>; 它同时发射 155 keV 的  $\gamma$  射线, 也可以较好地诊断肿瘤。

综上所述, <sup>188</sup>Re-DTPA-DG 有望用于实体瘤诊断和治疗研究。

#### 参考文献:

- [1] YANG D, YUKIHIRO M, YU DF, et al. Assessment of Therapeutic Tumor Response Using <sup>99m</sup>Tc-ethylenedicysteine-glucosamine[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2004, 19(4): 443-456.
- [2] BAYLY SR, FISHER CL, STORR T, et al. Carbohydrate Conjugates for Molecular Imaging and Radiotherapy: <sup>99m</sup>Tc(I) and <sup>186</sup>Re(I) Tricarbonyl Complexes of N-(2'-Hydroxybenzyl)-2-amino-2-deoxy-D-glucose[J]. Bioconjug Chem, 2004, 15(4): 923-926.
- [3] CHEN Y, HUANG ZW, HE L, et al. Biodistribution and Imaging With <sup>99m</sup>Tc-DTPA-deoxyglucose in Tumor Bearing Mice[J]. J Nucl Med, 2005, 46(5): 359-360.
- [4] CHEN Y, HUANG ZW, HE L, et al. Synthesis and Evaluation of a Technetium-99m-labelled Diethylenetriaminepentaacetate-deoxyglucose Complex (<sup>99m</sup>Tc]-DTPA-DG) as a Potential Imaging Modality for Tumours[J]. Appl Radiat and Isot, 2006, 64: 342-347.
- [5] 陈跃, 黄占文, 何菱, 等. <sup>99</sup>Tc<sup>m</sup>-DTPA-DG 的制备和荷瘤动物实验研究[J]. 中华核医学杂志, 2005, 25(3): 176-178.
- [6] 陈跃, 黄占文, 何菱, 等. <sup>99</sup>Tc<sup>m</sup>-DTPA-DG 标记物的制备[J]. 核化学与放射化学, 2006, 28(2): 125-128.
- [7] SAILEROVA E, BILLINGHURST MW. Storage Conditions for <sup>188</sup>Re-perrhenate Solutions and Their Impact on the Use of the <sup>188</sup>Re-perrhenate in the Preparation of <sup>188</sup>Re Labeled Compounds[J]. Appl Radiat and Isot, 2003, 58: 353-359.
- [8] JEONG JM, CHUNG JK. Therapy With <sup>188</sup>Re-labeled Radiopharmaceuticals; an Overview of Promising results From Initial Clinical Trials[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2003, 18(5): 707-717.

表 1 <sup>188</sup>Re-DTPA-DG 荷瘤裸鼠体内组织分布 (n=3)

器官	不同时间(h)的放射性摄取/(%·g <sup>-1</sup> )		
	3	12	24
血	0.40±0.06	0.26±0.04	0.05±0.01
心脏	0.81±0.12	0.42±0.06	0.21±0.03
肺	0.35±0.05	0.55±0.08	0.19±0.03
肝	1.26±0.18	0.53±0.08	0.30±0.04
脾	0.34±0.08	0.21±0.03	0.37±0.06
肾	1.94±0.25	2.10±0.32	0.15±0.02
胃	0.76±0.11	0.51±0.08	0.32±0.05
小肠	0.47±0.07	0.30±0.05	0.36±0.05
肌肉	0.27±0.04	0.23±0.03	0.12±0.02
大脑	0.11±0.02	0.17±0.03	0.04±0.01
肿瘤	1.98±0.29	2.89±0.43	0.42±0.06

表 2 <sup>188</sup>Re-DTPA-DG 荷瘤裸鼠体内的 T/NT

组 别	不同时间(h)的 T/NT		
	3	12	24
肿瘤/血	4.99	11.00	8.20
肿瘤/肺	5.68	5.22	2.18
肿瘤/肌肉	7.40	12.76	3.56
肿瘤/脑	18.16	16.72	10.98