

^{177}Lu -EDTMP 和 ^{177}Lu -DOTMP 的制备及其生物分布

邓新荣, 李洪玉, 叶肇云, 郭红源, 李凤林, 罗志福

(中国原子能科学研究院 同位素研究所, 北京 102413)

摘要: 研究了乙二胺四甲撑膦酸(EDTMP)和四膦酸亚甲基-四氮杂环十二烷(DOTMP)的 ^{177}Lu 标记, 优化了标记条件, 并对标记物在正常小鼠体内的生物分布进行了研究。 ^{177}Lu -EDTMP 的最佳标记条件为: EDTMP 25 mg、 $^{177}\text{LuCl}_3$ 溶液 100 μL (12.8 MBq)、pH 8, 100 $^\circ\text{C}$ 下反应 30 min; ^{177}Lu -DOTMP 的最佳标记条件为: DOTMP 6.3 mg、 $^{177}\text{LuCl}_3$ 溶液 100 μL (5 MBq), pH 9, 100 $^\circ\text{C}$ 下反应 15 min。 ^{177}Lu -EDTMP 和 ^{177}Lu -DOTMP 均具有较好的体外稳定性, 室温下存放 7 d, 放化纯度仍 $>98\%$ 。生物分布结果显示, ^{177}Lu -EDTMP 和 ^{177}Lu -DOTMP 主要浓聚于骨组织, 经肾脏排泄, ^{177}Lu -DOTMP 较 ^{177}Lu -EDTMP 的血液清除快。该结果表明两者都具有良好的骨靶向性。

关键词: ^{177}Lu ; EDTMP; DOTMP; 生物分布

中图分类号: R817 文献标志码: A 文章编号: 1000-7512(2009)02-0071-05

Radiolabeling and Biodistribution of ^{177}Lu -EDTMP and ^{177}Lu -DOTMP

DENG Xin-rong, LI Hong-yu, YE Zhao-yun,

GUO Hong-yuan, LI Feng-lin, LUO Zhi-fu

(Department of Isotope, China Institute of Atomic Energy, Beijing 102413, China)

Abstract: The labeling methods for ^{177}Lu -EDTMP and ^{177}Lu -DOTMP were established, and the biodistribution of ^{177}Lu -EDTMP and ^{177}Lu -DOTMP in normal mice was carried out as well. The optimal experimental condition of ^{177}Lu -EDTMP and ^{177}Lu -DOTMP was as follows: EDTMP 25 mg, $^{177}\text{LuCl}_3$ solution 100 μL (12.8 MBq), pH 8 at 100 $^\circ\text{C}$ for 30 min and DOTMP 6.3 mg, $^{177}\text{LuCl}_3$ solution 100 μL (5 MBq), pH 9 at 100 $^\circ\text{C}$ for 15 min respectively. Both of the two radiolabeled complex were observed to be good stability for 7 days at room temperature, the radiochemical purity was more than 98%. The results showed that ^{177}Lu -EDTMP and ^{177}Lu -DOTMP were selective skeletal uptake and mainly excreted by kidney. ^{177}Lu -DOTMP was more quickly cleared from blood than ^{177}Lu -EDTMP. It indicated that the two labeling compounds have good bone targeting.

Key words: ^{177}Lu ; EDTMP; DOTMP; biodistribution

^{177}Lu 具有适宜的物理半衰期(6.7 d),发射能量为 176 (12.2%)、384 (9.1%),和 497 (78.6%)keV 的 β^- 粒子, β^- 粒子的平均能量为 133 keV,在组织中的平均射程为 670 μm ,适合杀死肿瘤组织; ^{177}Lu 发射的能量为 113(6.4%)和 208(11.0%)keV 的 γ 射线用于显像,可监测和指导治疗过程,患者接受的辐射剂量也较少。 ^{177}Lu 较长的半衰期不但为其生产产品的质量分析和控制、核素生产地点的供应提供了方便,还可以减少多次注射给病人带来的痛苦。 ^{177}Lu 可以通过反应堆辐照生产,其低成本和易得的特点使其适用于生产放射性药物^[2]。因此, ^{177}Lu 是近年来受到广泛关注的可用于肿瘤治疗的放射性核素。

骨转移是恶性肿瘤最常见的并发症之一,几乎所有肿瘤都可以转移到骨骼系统。恶性肿瘤发生骨转移后,可导致顽固性疼痛,是晚期肿瘤病人最常见和最难以解决的问题,严重影响病人的生活质量和预后^[3]。

乙二胺四甲撑膦酸(EDTMP)为配体的标记化合物 ^{153}Sm -EDTMP 已经应用于治疗癌广泛骨转移,并显示了明显疗效,缓解了患者疼痛,改善了其生活质量^[4]。1,4,7,10-四膦酸亚甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷(DOTMP)是一种多齿的氨基亚甲基膦酸类的配体,可与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 形成稳定的配合物^[5]。但关于肿瘤治疗用放射性核素 ^{177}Lu 标记的 EDTMP 和 DOTMP 的研究在国内还未见报道。本研究拟以 ^{177}Lu 标记 EDTMP 和 DOTMP,并对 ^{177}Lu -DOTMP 和 ^{177}Lu -DOTMP 在小鼠体内的生物分布进行观察,探讨两者作为骨靶向剂的可能性。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

电子天平:德国 Sartorius 公司;LB2722-2 放射性扫描仪:美国 GE 公司;RM-905A 型活度计:中国计量科学研究院;Whatman 3 mm 层析纸:英国 Whatman 公司。

1.2 主要材料与试剂

EDTMP:美国 Alfa Aesar 公司;DOTMP:本实验室参考文献^[6]合成,并对其结构进行了确认;其它试剂均为分析纯,购自北京化学试剂公司,使用前未作进一步纯化。 $^{177}\text{LuCl}_3$ 溶液:放射性浓度为 296 GBq/L,中国原子能科学研究院

同位素研究所。

昆明种小鼠:雌性,4~5 周龄,体重 18~20 g,清洁级,中国医学科学院实验动物研究中心提供。

1.3 ^{177}Lu -EDTMP 和 ^{177}Lu -DOTMP 的制备

1.3.1 ^{177}Lu -EDTMP 的制备及分析 取 25 mg EDTMP、100 μL (约 12.8 MBq) $^{177}\text{LuCl}_3$ 溶液混合,用 0.01 mol/L NaOH 溶液调 pH 至 8,反应总体积为 1.5 mL,用加热块控制反应温度为 100 $^\circ\text{C}$,进行 EDTMP 的 ^{177}Lu 的标记。用 Whatman 3 mm 纸层析法测定 ^{177}Lu -EDTMP 的标记率,展开体系为 V(丙酮):V(水)=1:3。

1.3.2 ^{177}Lu -DOTMP 的制备及分析 取 6.3 mg DOTMP、100 μL (约 5 MBq) $^{177}\text{LuCl}_3$ 溶液,用 0.5 mol/L pH 9 的 NaHCO_3 缓冲液调 pH 至 9,反应总体积为 1.5 mL,用加热块控制反应温度为 100 $^\circ\text{C}$,对 DOTMP 进行 ^{177}Lu 标记。采用 Whatman 3 mm 纸层析法测定 ^{177}Lu -DOTMP 的标记率,展开体系为 V(氨水):V(乙醇):V(水)=1:10:20。

1.4 体外稳定性测定

将标记物于室温下分别放置 2、4 和 7 d 后测定其放化纯度,观察标记物的稳定性。

1.5 小鼠体内的生物分布

选用 25 只昆明小鼠,随机分为 5 组,每组 5 只。尾静脉注射 0.1 mL(0.22 MBq) ^{177}Lu -EDTMP 溶液,并于注射后 1、3 h,1、2 和 6 d 处死小鼠,取血、心、肝、脾、肺、肾、胃、肌肉、胫骨和头盖骨等器官,称重并测量其 γ 计数。计算出单位质量脏器的放射性摄取(%ID/g)。用同样方法测定 ^{177}Lu -DOTMP 在昆明小鼠体内的生物分布。

2 结果与讨论

2.1 ^{177}Lu -EDTMP 和 ^{177}Lu -DOTMP 的制备

2.1.1 ^{177}Lu -EDTMP 的制备

1.3.1 节中其他条件不变,改变反应体系的 pH,观察其对 ^{177}Lu -EDTMP 标记率的影响,结果示于图 1。由图 1 可以看出,反应液的 pH 分别为 3、7、8 和 9 时, ^{177}Lu -EDTMP 的标记率分别为 92.43%、91.46%、99.11%和 99.13%。该结果表明, ^{177}Lu -EDTMP 的标记率依赖于反应体系的 pH,在碱性条件下可获得较高的标记率。

1.3.1 节中其他条件不变,改变反应时间和反应温度,观察其对¹⁷⁷Lu-EDTMP 标记率的影响,结果示于图 2。由图 2 可以看出,反应温度较高时,标记反应达到平衡所需要的时间短,反应温度为 100 ℃时,反应 30 和 60 min,¹⁷⁷Lu-EDTMP 的标记率分别为 99.24%和 99.72%,即在此温度下,反应 30 min 已基本达到平衡,延长反应时间,标记率不再有明显增加;而在室温下进行的标记反应,反应进行 60 min 时,¹⁷⁷Lu-EDTMP 标记率才达到 98.49%。因此,选择在高温(100 ℃)下进行标记,标记时间选为 30 min。

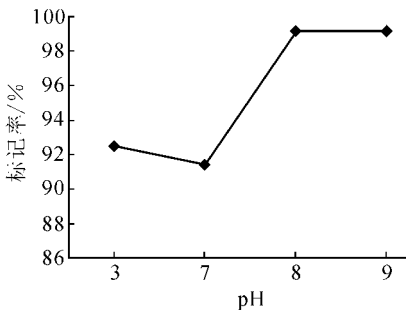


图 1 pH 对¹⁷⁷Lu-EDTMP 标记率的影响

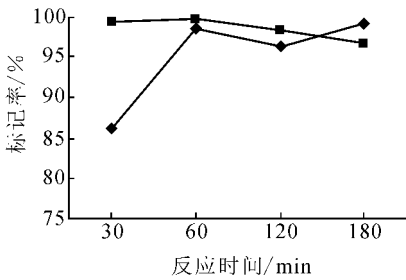


图 2 反应时间对¹⁷⁷Lu-EDTMP 标记率的影响

◆——室温;■——100 ℃

改变 1.3.1 节中 EDTMP 的用量,观察其对¹⁷⁷Lu-EDTMP 标记率的影响,结果示于图 3。由图 3 可知,EDTMP 用量分别为 10、15、20 和 25 mg 时,¹⁷⁷Lu-EDTMP 标记率分别为 99.08%、99.45%、99.53%和 99.74%。

2.1.2 ¹⁷⁷Lu-DOTMP 的制备

1.3.2 节中仅改变反应时间,观察其对¹⁷⁷Lu-DOTMP 标记率的影响,结果示于图 4。由图 4 可以看出,延长反应时间,有利于配合物的生成,在 6.3 mg DOTMP 和 5 MBq ¹⁷⁷LuCl₃

时,30 和 60 min ¹⁷⁷Lu-DOTMP 标记率分别为 98.79%和 99.20%。因此选择¹⁷⁷Lu-DOTMP 的标记反应时间为 60 min。

1.3.2 节中改变配体与 Lu 的摩尔比,观察其对标记率的影响,结果显示,配体与¹⁷⁷Lu 的摩尔比为 1.5 : 1、3.5 : 1 和 5 : 1 时,标记率分别为 95.09%、99.17%和 99.20%。此结果表明,配体与 Lu 摩尔比的增大有利于反应进行。在采用 6.3 mg DOTMP 和 5 MBq ¹⁷⁷LuCl₃ 时, DOTMP 与¹⁷⁷Lu 摩尔比为 5 : 1,反应 15 ~ 180 min,标记率皆高于 99%。

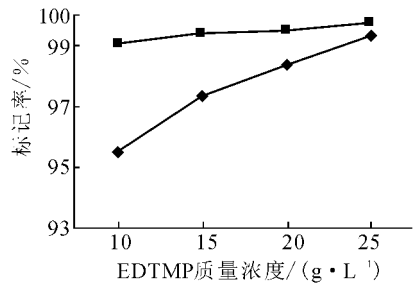


图 3 EDTMP 浓度对¹⁷⁷Lu-EDTMP 标记率的影响

◆——15 min;■——45 min

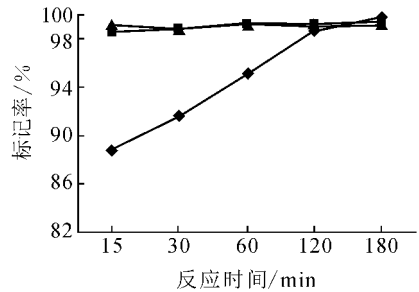


图 4 反应时间对¹⁷⁷Lu-DOTMP 标记率的影响

◆——配体与 Lu 的摩尔比为 1.5 : 1;

■——配体与 Lu 的摩尔比为 3.5 : 1;

▲——配体与 Lu 的摩尔比为 5 : 1

2.2 体外稳定性

由于投入原料为纯 EDTMP,没有其他杂质,因此可以认为标记物很纯,无需纯化,也可视放化纯度与标记率数值相等。

标记所得¹⁷⁷Lu-EDTMP 溶液在室温下存放 2、4 和 7 d,¹⁷⁷Lu-EDTMP 放化纯度分别为 99.26%、99.48%和 99.12%,说明¹⁷⁷Lu-EDTMP 具有良好的体外稳定性。配体 EDTMP 与¹⁷⁷Lu 的摩尔比大,获得的标记物溶液稳定性

也高。

标记所得¹⁷⁷Lu-DOTMP 溶液室温放置 7 d 后,放化纯度仍 > 99%。此结果说明¹⁷⁷Lu-DOTMP 也具有较好的体外稳定性。

2.3 在小鼠体内的生物分布

¹⁷⁷Lu-EDTMP 在昆明小鼠体内主要脏器的放射性摄取(%ID/g)列于表 1。由表 1 可以看出,静脉注入¹⁷⁷Lu-EDTMP 后,放射性主要浓集于骨组织,在注射¹⁷⁷Lu-EDTMP 溶液 60 min 后,头骨和胫骨的放射性摄取分别为放射性摄取(14.540±3.383)和(30.922±6.743)%ID/g。在心、肝、脾、肺、肾等主要脏器中,肾放射性摄取明显高于其它脏器,提示¹⁷⁷Lu-EDTMP 主要经

肾脏排泄。注射 6 d 后,除骨骼外,血和其它主要脏器中放射性都无明显浓聚。

¹⁷⁷Lu-DOTMP 在昆明小鼠体内主要脏器的放射性摄取(%ID/g)列于表 2。由表 2 可以看出,在注射¹⁷⁷Lu-DOTMP 溶液 60 min 后,骨中的摄取已经明显达到高值,头骨和胫骨的放射性摄取分别为(18.459±2.094)和(23.437±4.058)ID%/g。注射 48 h 后,除骨骼外,血和其它主要脏器中放射性都无明显浓聚。6 d 后,骨中尚存较高放射性。¹⁷⁷Lu-DOTMP 在肾中比在其它脏器中富集较多,提示¹⁷⁷Lu-DOTMP 也主要经肾脏排泄。

表 1 ¹⁷⁷Lu-EDTMP 在正常小鼠体内分布($\bar{x}+s, n=5$)

器官	不同时相每克脏器的放射性摄取/(%ID·g ⁻¹)				
	1 h	3 h	1 d	2 d	6 d
心	0.589±0.078	0.505±0.048	0.442±0.028	0.574±0.074	0.038±0.002
肝	0.159±0.023	0.163±0.028	0.130±0.006	0.185±0.035	0.158±0.019
脾	0.865±0.216	0.826±0.229	0.808±0.131	0.653±0.121	0.631±0.127
肺	0.430±0.120	0.559±0.182	0.377±0.105	0.462±0.144	0.378±0.118
肾	1.460±1.343	0.864±0.090	0.562±0.070	0.393±0.045	0.365±0.037
胃	0.427±0.093	0.375±0.030	0.310±0.052	0.412±0.038	0.332±0.035
肠	0.414±0.350	0.469±0.255	0.517±0.061	0.356±0.290	0.698±0.202
血	0.596±0.954	0.209±0.100	0.127±0.030	0.127±0.026	0.125±0.030
头骨	14.540±3.383	14.572±2.749	13.227±4.353	17.146±1.225	19.416±1.807
胫骨	30.922±6.743	25.818±6.839	19.536±3.041	25.386±6.891	26.750±1.160
肌肉	0.711±0.342	0.655±0.414	0.888±0.186	0.355±0.152	0.366±0.122

表 2 ¹⁷⁷Lu-DOTMP 在正常小鼠体内分布($\bar{x}+s, n=5$)

器官	不同时相每克脏器的放射性摄取/(%ID·g ⁻¹)				
	1 h	3 h	1 d	2 d	6 d
心	0.106±0.039	0.081±0.026	0.067±0.029	0.118±0.023	0.105±0.019
肝	0.085±0.077	0.119±0.039	0.187±0.059	0.149±0.071	0.270±0.086
脾	0.770±0.012	0.746±0.440	0.179±0.438	0.256±0.372	0.245±0.244
肺	0.365±0.085	0.319±0.078	0.156±0.065	0.244±0.120	0.361±0.086
肾	1.032±0.127	0.623±0.176	0.458±0.093	0.309±0.016	0.234±0.041
胃	0.141±0.056	0.174±0.062	0.181±0.038	0.197±0.049	0.213±0.064
肠	0.219±0.135	0.070±0.076	0.092±0.099	0.062±0.128	0.227±0.160
血	0.176±0.029	0.092±0.015	0.031±0.016	0.044±0.012	0.055±0.065
头骨	18.459±2.094	13.283±2.084	14.852±5.618	12.715±2.473	13.668±0.929
胫骨	23.437±4.058	13.311±2.742	18.350±6.124	14.336±3.315	15.853±3.892
肌肉	0.322±0.060	0.252±0.175	0.373±0.069	0.259±0.062	0.166±0.086

比较表 2 和表 3 可知,¹⁷⁷Lu-EDTMP 和¹⁷⁷Lu-DOTMP 都能快速在骨组织中富集,并且在 6 d 后仍保持较高的分布,具有良好的骨靶向性;在血液中清除较快,并且放射性在其它主要器官没有明显的聚集,通过肾脏排泄。相比较而言,¹⁷⁷Lu-DOTMP 在血中的清除比¹⁷⁷Lu-EDTMP 快。

3 结 论

在本工作所确定的实验条件下,用¹⁷⁷Lu 标记 EDTMP 和 DOTMP 形成的配合物¹⁷⁷Lu-EDTMP 和¹⁷⁷Lu-DOTMP 都能达到高的标记率(>99 %),其体外稳定性良好;¹⁷⁷Lu-EDTMP 和¹⁷⁷Lu-DOTMP 都可以选择性地被骨组织吸收,在骨中代谢慢,聚集时间长,具有良好的骨靶向性,而且在血中清除较快,在其它脏器只有少量的摄取。

致谢:感谢向学琴、李贵群、樊彩云、刘子华和陈阳等人在工作中所给予的帮助。

参考文献:

- [1] Liepe K, Runge R, Kotzerke J. The benefit of bone-seeking radiopharmaceuticals in the treatment of metastatic bone pain[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2005, 31(1):60-66.
- [2] Ando A, Ando I, Tonami N, et al. ¹⁷⁷Lu-EDTMP: a potential therapeutic bone agent[J]. Nucl Med Commun, 1998, 19(6): 587-591.
- [3] Chakraborty S, Das T, Unni PR, et al. ¹⁷⁷Lu labelled polyaminophosphonates as potential agents for bone pain palliation [J]. Nucl Med Commun, 2002, 3(1): 67-74.
- [4] 张淑兰,马力文,张照辉,等. ¹⁵³Sm- EDTMP 治疗多发性骨转移癌的临床观察[J]. 中华放射医学与防护杂志,2006, 26(2):163-165.
- [5] 王芳. [⁹⁹Tc^m(CO)₃]-DOTMP 制备及生物评价[D]. 北京:中国原子能科学研究院,2007.
- [6] Tapas DA, Sudipta CH, Unnia PR, et al, ¹⁷⁷Lu-labeled cyclic polyaminophosphonates as potential agents for bone pain palliation[J]. Applied Radiation and Isotopes, 2002, 57: 177-184.