

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 直接标记洛美沙星方法研究

刘剑峰¹, 韩建奎¹, 张 超², 侯桂华²

(1. 山东大学齐鲁医院 核医学科, 山东 济南 250012;
2. 山东大学医学院 实验核医学研究所, 山东 济南 250012)

摘要: 采用 $\text{Na}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4$ 对洛美沙星进行了直接标记, 并对标记条件进行了优化, 确定 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记洛美沙星的最佳条件, 并测定了标记物的体外稳定性和脂水分配系数。结果表明, 最佳标记条件为洛美沙星 3 mg, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 150 μg , pH=6, 温度为 60 $^\circ\text{C}$, 标记时间为 10 min, 所得标记物的标记率 >95%, 放化纯度可达 96.98%; 标记物体外稳定性良好, 可在 0.01 mol/L pH7.4 的 PBS 中室温放置 6 h, 其放化纯度仍 >95%; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -洛美沙星为脂溶性化合物。以上结果表明, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 直接标记洛美沙星的方法操作简单, 标记率较高。标记物不需分离纯化, 体外稳定性好。

关键词: $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$; 洛美沙星; 标记

中图分类号: R817-33 文献标志码: A 文章编号: 1000-7512(2010)01-0006-04

Direct Labeling Method of Lomefloxacin With $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$

LIU Jian-feng¹, HAN Jian-kui¹, ZHANG Chao², HOU Gui-hua²

(1. Department of Nuclear Medicine, Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China;
2. Institute of Experimental Nuclear Medicine, Shandong University, Jinan 250012, China)

Abstract: The purpose of this study was to determine the best conditions in synthesis of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -lomefloxacin. Lomefloxacin was directly labeled by $\text{Na}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4$, the effects on labeling yield by lomefloxacin, stannous chloride, pH and temperature were evaluated, the labeling yield, stability, and lipid/water partition coefficient were analyzed. The results showed that the labeling yield was more than 95% and the radiochemical purity of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -lomefloxacin was 96.98%. The optimized synthesis conditions of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -lomefloxacin were containing 3 mg lomefloxacin, 150 μg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, pH 6, 10 min and 60 $^\circ\text{C}$. $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -lomefloxacin has an excellent radiochemical characters. $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -lomefloxacin was fat-soluble. These results demonstrated that the direct labeling method of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -lomefloxacin was easy and efficient.

Key words: $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$; lomefloxacin; labelling

近年来,放射性同位素标记抗菌素成为研究的热点,其中放射性同位素标记喹诺酮类抗菌素研究较多^[1-4]。⁹⁹Tc^m-Ciprofloxacin(环丙沙星)已用于临床炎症显像,鉴别细菌性炎症和非细菌性或无菌性炎症,但其确切作用仍存在质疑。其它喹诺酮类药物能否具有更好的体内代谢和分布特性以及更适于临床炎症显像值得深入探讨。Lomefloxacin(洛美沙星)和 Ciprofloxacin(环丙沙星)同属第三代喹诺酮类广谱抗菌药,化学结构相似,但是迄今为止尚未见有关洛美沙星放射性同位素标记物的研究报道。本研究拟采用⁹⁹Tc^m直接标记洛美沙星^[5-6],探讨其最佳标记条件,旨在为探讨⁹⁹Tc^m标记洛美沙星能否作为新型炎症显像剂提供实验依据。

1 主要实验材料

多道 γ 计数器:美国 CAPRAC 公司;薄层放射性扫描仪(TLC):德国 Raytest Isotopenmessger te GmbH 公司;洛美沙星:山东省医药工业研究所,分析纯;⁹⁹Mo-⁹⁹Tc^m发生器:原子高科股份有限公司产品;pH 精密试纸、新华一号滤纸、GF-254 硅胶纸:浙江黄岩实验化学厂。其余试剂为国产分析纯。

2 实验方法

2.1 ⁹⁹Tc^m-洛美沙星的制备

将 3 mg 洛美沙星和 150 μ g SnCl₂ · 2H₂O (1.5 mol/L HCl 溶液)混合,用 0.1 mol/L NaOH 溶液调 pH 至 6。加入新鲜淋洗的 1~2 mL Na⁹⁹Tc^mO₄ (370 MBq),充分振摇,60 °C 加热 10 min,冷却至室温后测⁹⁹Tc^m-洛美沙星标记率。

2.2 标记率的测定

采用纸层析法测定⁹⁹Tc^m-洛美沙星标记率。新华一号滤纸作为支持物,展开体系为 V(生理盐水):V(丙酮)=1.5:1。展开 10 min 后,取出晾干。实验重复 3 次,计算⁹⁹Tc^m-洛美沙星、⁹⁹Tc^mO₂、⁹⁹Tc^mO₄⁻的 R_f 分别为 0.35、0、1.0,计算标记率。

2.3 标记条件的优化

在⁹⁹Tc^m-洛美沙星的标记过程中,在其它条件不变的情况下改变标记条件中的一项,测定标记率,观察其变化趋势,选择最佳标记条件。实验重复 3 次。各项条件分别为:①SnCl₂ · 2H₂O

分别为:50、100、150、200、250、300 μ g;②洛美沙星分别为 1、2、3、4、5、6 mg;③pH 分别调为 2、3、4、5、6、7;④反应温度分别为 20、40、60、80、100 °C;⑤反应时间分别为 5、10、15、20、25 min。

2.4 一般理化性质

用精密 pH 试纸测量⁹⁹Tc^m-洛美沙星注射液的 pH,目测其颜色和澄清晰度。

2.5 ⁹⁹Tc^m-洛美沙星放化纯度及体外稳定性

放化纯度测定采用薄层层析法(TLC),支持物为 GF-254 硅胶纸,展开体系为 V(生理盐水):V(丙酮)=1.5:1。将标记物点于 GF-254 硅胶纸上,放入展开体系,10 min 后取出晾干,薄层放射性扫描仪测定⁹⁹Tc^m-洛美沙星、⁹⁹Tc^mO₂、⁹⁹Tc^mO₄⁻的 R_f,计算⁹⁹Tc^m-洛美沙星放化纯度。将所得标记物加入 0.01 mol/L pH 7.4 的 PBS 溶液中,室温下放置 1、2、3、4、5、6 h,计算放化纯度。实验重复 3 次。

2.6 标记物脂水分配系数实验

将⁹⁹Tc^m-洛美沙星溶于 2 mL V(正辛醇):V(双蒸馏水)=1:1 的溶液中,振摇,离心,分别取同量的有机相和水相测定放射性计数,按有机相放射性计数/水相放射性计数计算分配系数。实验重复 3 次。

3 结果与讨论

3.1 ⁹⁹Tc^m-洛美沙星标记条件的选择

3.1.1 SnCl₂ · 2H₂O 用量对标记率的影响
在标记过程中,SnCl₂ · 2H₂O 过多将增加水解锡的量并还原⁹⁹Tc^m形成⁹⁹Tc^m-Sn 胶体。SnCl₂ · 2H₂O 过少又会使⁹⁹Tc^m不能还原到所需的氧化态,导致形成不需要的络合物。SnCl₂ · 2H₂O 对标记率的影响结果示于图 1。由图 1 可见,开始时,随着 SnCl₂ · 2H₂O 用量的增加,标记率也迅速增大,在 150 μ g 处达到最大,此后增加其用量标记率有所下降,因此本实验选择 SnCl₂ · 2H₂O 用量为 150 μ g。

3.1.2 洛美沙星用量对标记率的影响
洛美沙星用量对标记率的影响结果示于图 2。由图 2 可见,与 SnCl₂ · 2H₂O 对标记率的影响相似,开始时增加洛美沙星用量,标记率呈上升趋势,但增加到 3 mg 后,标记率反而呈下降趋势。洛美沙星用量为 3 mg 时标记率最大,因此本实验选择洛美沙星用量为 3 mg。

3.1.3 pH对标记率的影响 pH对标记率的影响结果示于图3。由图3可见,pH对标记率的影响很明显,强酸性条件不利于标记反应的进行,pH为6时标记率达最高,为 $96.4\% \pm 0.77\%$ 。因此本实验选择pH为6。

3.1.4 反应温度对标记率的影响 反应温度对标记率的影响结果示于图4。由图4可见,反应温度对标记率的影响也很显著,低温不利于标记反应的进行,高温下标记率也不理想,60℃下反应,标记率最高达 $96.4\% \pm 0.89\%$,因此本实验选择反应温度为60℃。

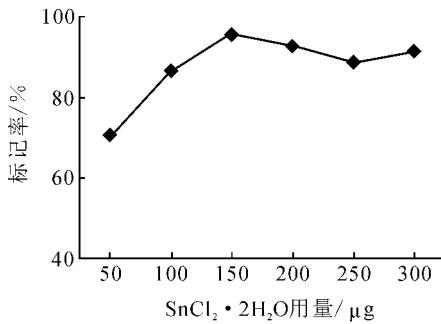


图1 SnCl₂ · 2H₂O用量对标记率的影响

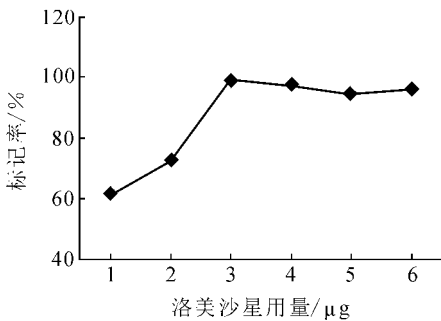


图2 洛美沙星用量对标记率的影响

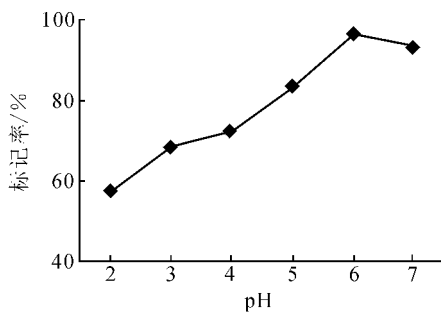


图3 pH对标记率的影响

3.1.5 反应时间对标记率的影响 反应时间对标记率的影响结果示于图5。由图5可见,在反应15 min时标记率已达到 $95.4\% \pm 0.56\%$ 。此后延长反应时间,标记率有所下降,因此本实验选择反应时间为15 min。

综上所述,最佳标记条件为:洛美沙星用量3 mg,SnCl₂ · 2H₂O用量150 μg,pH=6,反应温度为60℃,反应时间为10 min,所得标记物的标记率>95%。

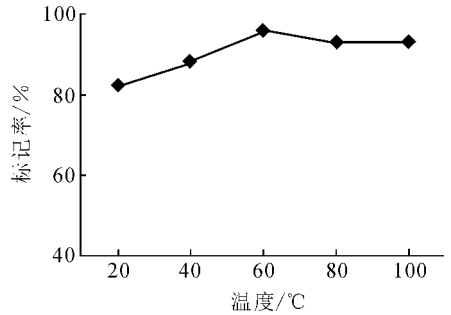


图4 反应温度对标记率的影响

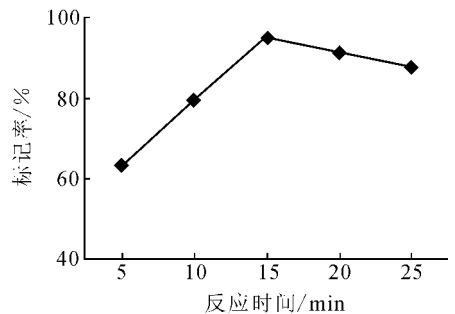


图5 反应时间对标记率的影响

3.2 一般理化性质

⁹⁹Tc^m-洛美沙星注射液为无色澄明溶液,其pH为6.0~7.0。

3.3 ⁹⁹Tc^m-洛美沙星的放化纯度及稳定性

TLC扫描结果示于图6。TLC测定⁹⁹Tc^m-洛美沙星、⁹⁹Tc^mO₂、⁹⁹Tc^mO₄⁻的R_f分别为0.35、0.1.0,放化纯度为96.98%。在0.01 mol/L pH 7.4的PBS溶液中室温放置1、2、3、4、5、6 h,放化纯度分别为 $96.51\% \pm 1.21\%$ 、 $96.39\% \pm 1.05\%$ 、 $96.14\% \pm 1.32\%$ 、 $95.99\% \pm 1.13\%$ 、 $95.87\% \pm 0.97\%$ 、 $95.64\% \pm 0.85\%$,均>95%。此结果提示,标记物可在0.01 mol/L pH 7.4的PBS溶液中室温存放6 h。

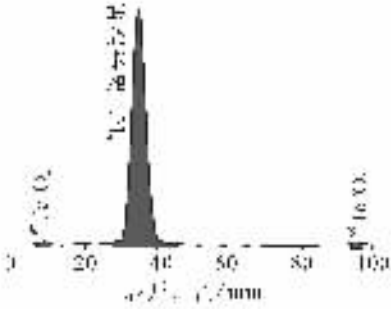


图 6 ⁹⁹Tc^m-洛美沙星 TLC 放射性扫描图谱

3.4 脂水分配系数

⁹⁹Tc^m-洛美沙星脂水分配系数分别为 22.48、19.76、21.05, 平均值为 21.10 ± 1.36 , 提示标记物为脂溶性化合物。

4 小 结

本实验探索了⁹⁹Tc^m 标记洛美沙星的最佳条件, 该方法具有制备简便、易于操作、标记率高等优点, 为进一步的放射性同位素标记喹诺酮类抗菌素提供了一定的技术基础。今后将进一步研究⁹⁹Tc^m-洛美沙星对动物的药理毒理方面的影响。

参考文献:

- [1] de Winter F, Van de Wielec, Dumont F, et al. Biodistribution and dosimetry of ⁹⁹Tc^m- ciprofloxacin, a promising agent for the diagnosis of bacterial infection [J]. Eur J Nucl Med, 2001, 28 (5): 570-574.
- [2] de Winter F, Gemmel F, Van Laere K, et al. ^{99m}Tc-ciprofloxacin planar and tomographic imaging for the diagnosis of infection in the postoperative spine; experience in 48 patients [J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2004, 31(2): 233-239.
- [3] Walker RC, Jones-Jackson LB, Martin W, et al. New imaging tool for the diagnosis of infection [J]. Future Microbiol, 2007, 2(5): 527-554.
- [4] Siaens RH, Rennen HJ, Boerman OC, et al. Synthesis and comparison of ^{99m}Tc-enrofloxacin and ^{99m}Tc-ciprofloxacin [J]. J Nucl Med, 2004, 45 (12): 2 088-2 094.
- [5] Zhang C, Hou GH, Han JK, et al. Radioiodine labeled anti-MIF McAb: a potential agent for inflammation imaging [J]. Mediators Inflamm, 2007, 2007: 50 180.
- [6] 赵荣, 汪静, 邓敬兰, 等. ^{99m}Tc 直接法标记 Octreotide 及其在甲状腺突眼患者的临床初步应用研究 [J]. 中国临床医学影像杂志, 2007, 18 (8): 533-536.