

肝细胞受体显像剂 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 的制备及其药盒化

毛一雷¹, 董一女¹, 杨文江², 张现忠², 唐志刚², 王学斌²

(1. 中国医学科学院, 中国协和医科大学, 北京协和医院 肝脏外科, 北京 100730;

2. 放射性药物教育部重点实验室, 北京师范大学 化学学院, 北京 100875)

摘要: 合成了二乙烯三胺五乙酸-半乳糖基人血清白蛋白(Diethylenetriamine Pentaacetic Acid-galactosyl-human Serum Albumin, GSA), 对其进行了 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记; 进一步研制了无菌 GSA 一步法冻干药盒, 并观察了 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 在正常小鼠以及肝损伤模型小鼠中的生物分布。标记结果显示, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 的标记率 $>96\%$ 。生物分布结果显示, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 在正常小鼠肝脏中有较高的摄取, 在 30 min 时, 肝脏摄取仍大于 70% ID/g, 且具有饱和性; 在肝损伤模型中, 肝摄取值低于正常小鼠($P=0.0324$)。冻干药盒法与湿法标记所得 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 的生物分布相当。所得 GSA 一步法冻干药盒标记简单可靠, 并且标记后的 GSA 仍有优良的生物性能, 可用于进一步临床研究及应用。

关键词: GSA; 药盒化; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记; 肝受体显像剂

中图分类号: TQ463; R446.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7512(2008)02-0088-07

The Preparation of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA and Its Instant Lyophilized Kit for Hepatic Receptor Imaging

MAO Yi-lei¹, DONG Yi-nü¹, YANG Wen-jiang², ZHANG Xian-zhong²,
TANG Zhi-gang², WANG Xue-bin²

(1. Liver Surgery Department, Peking Union Medical College Hospital, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China;

2. Key Laboratory of Radiopharmaceuticals College of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract: The ligand GSA (diethylenetriamine pentaacetic acid-galactosyl-human serum albumin) was synthesized by introducing bifunctional chelator DTPA (diethylenetriamine pentaacetic acid) to human serum albumin (HSA) via DTPA anhydride first, and then coupling galactosyl units (2-imino-2-methoxyethyl-thio-galactose) to DTPA-HSA. GSA was labeled with $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ by using SnCl_2 as reductant and the labeling conditions of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA were optimized. Lyophilized kit of GSA was also developed for instant preparing of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA. The labeling yields in excess of 96% by using both of liquid and lyophilized labeling

收稿日期: 2007-11-26; 修回日期: 2008-01-18

基金项目: 美国中华医学基金会(China Medical Board of New York, CMB)基金资助(06-837)

作者简介: 毛一雷(1964~), 男(汉族), 浙江人, 副主任医师、副教授, 主要从事肝胆外科、肝移植研究

通信作者: 张现忠, 副教授, 主要从事放射性药物化学研究, E-mail: zhangxzh@bnu.edu.cn

methods. Biodistribution of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA was investigated in both normal and liver-injury model mice. $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA showed high liver uptake in normal mice ($> 70\% \text{ID} \cdot \text{g}^{-1}$ at 30 min after injection). The liver uptake in liver-injury model mice is lower than that of in normal mice ($P=0.0324$). The promising biological properties of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA combined with the development of reliable and instant lyophilized GSA kit afford the opportunity of liver receptor imaging for routine clinical assessment of hepatocyte function.

Key words: GSA; kit; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ labeling; hepatic receptor imaging agent

哺乳动物肝细胞膜上存在血浆去唾液酸糖蛋白受体(Asialoglycoprotein Receptor, ASGP-R),它是介导肝脏清除血液中去唾液酸糖蛋白(Asialoglycoprotein, ASGP)的专一位点。由于在肝炎、肝硬化或肝癌等肝损伤性疾病发生时,ASGP-R 数量和活性均受到损害^[1-2],因此 ASGP-R 可以在一定程度上反映有效肝细胞功能,对 ASGP-R 进行定量分析有助于在手术前更好地判断剩余肝的功能。在众多评价肝功能的手段中,肝脏显像方法发展迅速,单光子发射型计算机断层扫描仪(Single Photon Emission Computer Tomography, SPECT)是目前最具发展的肝功能评价方法之一^[3-5],它可以动态显示肝细胞摄取代谢、排泄等功能及过程,并可提供肝细胞代谢的放射性-时间曲线。即利用 SPECT 可以对肝细胞功能进行定量分析。肝受体显像剂的发展是核医学科进行 SPECT 显像的基础,1984 年 Vera 等^[6]通过化学合成方法将半乳糖结构与人血清白蛋白偶联得到新乳糖白蛋白(galactosyl-neoglycoalbumin, NGA),并经 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记后进行肝显像研究。1986 年 Kubota 等^[7]研制了一种 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记 GSA($^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -Diethylenetriamine Pentaacetic Acid-galactosyl-human Serum Albumin),通过增加双功能连接剂二乙烯三胺五乙酸(DTPA)结构,增强了标记物的稳定性,减少了非特异性结合。利用该标记物不仅可以评价肝脏的形态和功能,早期诊断肝病,而且标记物在对体内物质代谢、肝脏的生理学和病理学研究中也有重要价值^[1-2,8]。目前日本已有 GSA 药盒应用于临床^[9],但在欧美和中国尚未开展此技术。华西医科大学等单位曾尝试合成了 GSA^[10]。我国是肝炎疾病高发国,特别是肝硬化继发肝癌患者众多^[11],因此,研究合成 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 已迫在眉睫。日本已经利用 ASG-

PR 显像剂为核医学肝脏 SPECT 显像建立了三维肝脏模型,该显像技术可以真实、数字化地反映肝脏功能,对肝硬化患者术前肝功能进行正确评估,帮助预测手术风险,制定治疗方案,降低肝脏手术的围手术期死亡率。该项研究在我国尚属空白,主要原因是缺乏可供显像用的 ASGPR 显像剂,特别是缺乏可供临床使用、易于推广的 ASGPR 显像剂冻干配套药盒。基于以上考虑,本工作拟制备 ASGPR 显像剂 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA,进一步制备 GSA 一步法冻干药盒。

1 实验部分

1.1 实验材料

D-半乳糖:BR,北京化学试剂公司;氯乙腈:按文献方法自行合成^[12];人血白蛋白(Human Serum Albumin, HSA):华兰生物工程股份有限公司;DTPA 环酐:Sigma 公司产品;4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES):Sigma 公司产品;ITLC-SG:Gelman Sciences Inc 公司产品;其它试剂均为分析纯,购自北京化学试剂公司。

医用 ^{99}Mo - $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 发生器:原子高科股份有限公司生产;RM-905a 放射性活度计:中国计量科学研究院;FM-2000 钨分析仪:北京东方圆通科技发展有限公司;LGJ-1GT 型冷冻干燥机:上海医用分析仪器厂。Cintra 10e 紫外分光光度计:澳大利亚 GBC 公司。

昆明小白鼠:18~20 g,雌性,北京大学医学部实验动物中心提供;

1.2 GSA 的制备

1.2.1 2-亚氨基-2-甲氧基乙基-1-硫代- β -D-半乳吡喃糖苷的制备^[6,13] 根据文献^[6,13]报道合成了 2-亚氨基-2-甲氧基乙基-1-硫代- β -D-半乳吡喃糖苷。合成路线示于图 1。

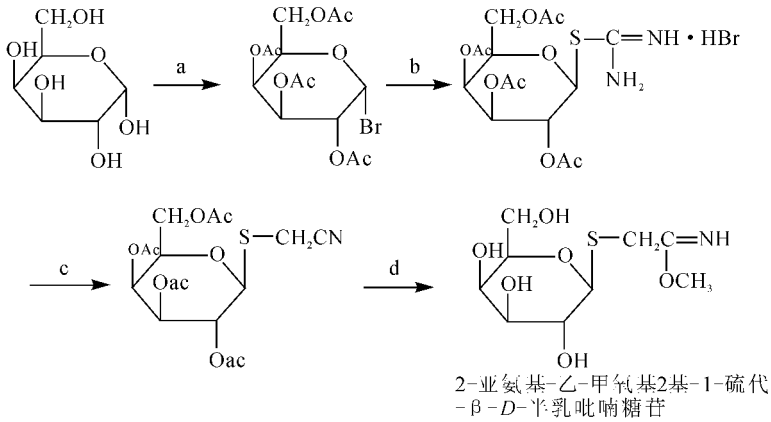


图 1 2-亚氨基-2-甲氧基乙基-1-硫代-β-D-半乳糖苷的合成路线

a— Ac_2O , HClO_4 , $30\sim 40\text{ }^\circ\text{C}$ / Br_2 , P; b—硫脲, 丙酮; c—氯乙腈, K_2CO_3 , NaHSO_3 ; d— CH_3ONa , CH_3OH

1.2.2 GSA 的制备^[14] 用 20 mL 0.1 mol/L pH 7.0 的 HEPES 缓冲液溶解 2 g HSA, 溶解后加入 104 mg DTPA 环酐, 搅拌反应 10 min。在二次蒸馏水中透析 72 h (每 24 h 换一次水)。得到 DTPA-HSA 溶液。用紫外分光光度计法测定所得 DTPA-HSA 溶液中的蛋白浓度。取 5 mL DTPA-HSA 溶液 (含 400 mg DTPA-HSA), 加入 0.1 mol/L pH 8.5 硼酸缓冲液稀释至 20 mL, 调 pH 至 8.5。将稀释好的 DTPA-HSA 溶液加入 2-亚氨基-2-甲氧基乙基-1-硫代-β-D-半乳糖苷 (4), 待固体全部溶解后, 37 °C 搅拌反应 3 h 后, 用二次蒸馏水透析平衡 72 h, 得到 GSA 溶液。用紫外分光光度计法测定所得 GSA 溶液中蛋白浓度, 苯酚-硫酸法测定糖密度^[15]。冻干产品 GSA, 充氮气密封, 备用。

1.3 湿法 GSA 的⁹⁹Tc^m 标记

取 1 mg GSA 溶于 0.5 mL 0.2 mol/L pH 3.5 NaAc-HAc 缓冲溶液中, 加入 10 μL 2 g/L $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶液, 充分摇匀, 加入由医用⁹⁹Mo/⁹⁹Tc^m 发生器淋洗的⁹⁹Tc^mO₄⁻洗脱液 0.5 mL (37 MBq), 充分振荡, 室温反应 5 min。纸色谱法测定标记率。改变 GSA 含量分别为 1、3、7、15 mg, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 含量分别为 20、50、100 μg 及反应时间分别为 5、30、60、120 min, 以确定最佳标记条件。

1.4 GSA 冻干药盒的制备

称取适量 GSA, 用 NaAc-HAc 缓冲溶液溶解, 加入适量 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 盐酸溶液。混匀后,

加入充氮二次水稀释至预定体积。无菌过滤后按 1.0 mL/瓶分装于 10 mL 西林瓶中, 冻干后充氮气密封, 备用。

1.4.1 GSA 冻干药盒的质量控制 药盒经冻干后, 紫外分光光度计法测定 GSA 的含量要求在标示量的 80%~120% 内; 极谱法测定还原剂 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 含量, 要求其含量 > 13 μg; 根据中华人民共和国药典 2005 年版二部附录 XI E、H 的方法对所合成的 GSA 进行无菌及细菌内毒素测定; 根据中国药典附录 XI C 对所合成的 GSA 进行异常毒性检查; 取正常昆明小鼠 5 只, 尾静脉注射 GSA 1 mg, 观察 72 h; 将所得药盒在 4 °C 冰箱中放置, 每个月测定其标记率, 以确定药盒的稳定性。

1.4.2 ⁹⁹Tc^m-GSA 的药盒法制备 向 GSA 冻干药盒中注入新鲜⁹⁹Tc^mO₄⁻洗脱液 1~3 mL (约 37 MBq), 振荡溶解, 室温放置 30 min, 采用 1.3 中纸色谱法测定标记率。

1.5 ⁹⁹Tc^m-GSA 的生物性能

1.5.1 湿法制备的⁹⁹Tc^m-GSA 在正常小鼠体内的生物分布 取 27 只正常昆明小白鼠, 随机分为 3 组, 每组 9 只, 分别为低剂量组 (LD)、高剂量组 (HD) 和抑制组 (Inhibit)。低剂量组尾静脉注射 0.1 mL (约 0.37 MBq, 含 1 μg GSA) 湿法标记的⁹⁹Tc^m-GSA; 高剂量组注射 0.1 mL (约 0.37 MBq, 含 200 μg GSA) 湿法标记的⁹⁹Tc^m-GSA; 抑制组先尾静脉注射 200 μg GSA, 5 min 后注射 0.1 mL (约 0.37 MBq, 含 1 μg GSA) 湿

法标记的⁹⁹Tc^m-GSA。3 组均分别于注射后 5、30 和 120 min 后断头处死,取出心、肝、肺、肾、肌肉、骨、血等组织,称量并在锝分析仪内测其放射性计数。

1.5.2 药盒法制备的⁹⁹Tc^m-GSA 在正常及肝损伤模型小鼠中的生物分布 取 8 只正常昆明小白鼠,随机分为 2 组,每组 4 只,一组每 84 h 腹腔注射 0.4 mL 10% CCl₄ 油溶液(市售精致花生油)作为肝损伤组^[16-17]。另一组为正常小鼠,做对照组。两组小鼠在同等条件下饲养 48 d 后,体重均为 28~30 g。分别于尾静脉注射 0.1 mL(约 0.37 MBq,含 3 μg GSA)药盒法标记的⁹⁹Tc^m-GSA,在注射后 5 min 时断头处死。取出心、肝、肺、肾、肌肉、骨、血等组织,称量并在锝分析仪内测其放射性计数。

1.5.3 正常及肝损伤模型小鼠的血清肝功能测定和肝脏病理检查 取正常小鼠及肝损伤模型小鼠的血液,于离心机中 4 000 r/min 离心 10 min。取上层血清做血清肝功能测定。取肝损伤模型小鼠肝脏,在福尔马林中固定,石蜡包埋切片,做肝脏病理检查。

2 结果与讨论

2.1 GSA 的合成

2-亚氨基-2-甲氧基乙基-1-硫代-β-D-半乳糖苷的化学合成产率较高,总产率约 18%,中间产物均经过红外、核磁、元素分析鉴定为目标产物。GSA 的合成通过人血白蛋白先与 DTPA 环酞反应得到 DTPA-HSA 后,再与半乳糖残基相联^[14]。与先将半乳糖连接到人血清白蛋白得到 NGA,然后与双功能连接剂 DTPA 相联得到 GSA 的方法相比较^[10],前者步骤相对简单,省略了 NGA 冻干一步,适于快速、大量生产。因此,本工作选用文献^[14]的方法制备 GSA。

所得 GSA 通过紫外分光光度法测定蛋白浓

度为 0.520 7 g/L,苯酚-硫酸法测得糖浓度为 43.89 mg/L。其糖密度 Gal/HSA=(0.043 89/180)/(0.520 7/67 000)为 31。与文献^[7]报道的药盒中 GSA 糖密度范围(30~40)一致。

2.2 湿法制备⁹⁹Tc^m-GSA 的最佳标记条件

通过 ITLC-SG/ACD(0.068 mol/L 柠檬酸盐,0.074 mol/L 葡萄糖,pH 5.0)、ITLC-SG/丙酮和 ITLC-SG/生理盐水测定⁹⁹Tc^m-GSA 的标记率。ITLC 法测得标记产物中各组分 R_f 列于表 1。

2.2.1 GSA 用量对标记率的影响 GSA 含量较小时(1、3、7 mg),改变其含量对标记率的影响不大,标记率均>95%;GSA 含量为 15 mg 时,标记率已降到 88%。标记率降低的具体原因尚不清楚,可能的原因是配体量过多时会与 Sn²⁺ 络合,降低了还原效率。

2.2.2 反应时间对标记率的影响 不同反应时间对标记率的影响不大,5 min 时标记率即可达 95%,30 min 时,标记率>96%。

2.2.3 SnCl₂·2H₂O 用量对标记率的影响 SnCl₂·2H₂O 含量对标记率影响较大,SnCl₂·2H₂O 含量分别为 50、100 μg 时,反应 5 min 后,⁹⁹Tc^m-GSA 标记率小于 80%。这主要是由于 SnCl₂·2H₂O 与⁹⁹Tc^mO₄⁻ 络合反应形成杂质为⁹⁹Tc^mO₂·xH₂O。

以上结果表明,⁹⁹Tc^m-GSA 的最佳标记条件为 GSA 3 mg,SnCl₂·2H₂O 20 μg,反应时间 30 min。最佳标记条件下,标记率>96%。

2.3 GSA 药盒化及质量控制

根据最佳标记条件,确定一步法冻干药盒的配方为:3.0 mg GSA, 20 μg SnCl₂·2H₂O,pH 3.5 和赋形剂(酒石酸钾钠,作用为稳定还原剂和使冻干粉末具有一定成形)适量。药盒的质量控制:药盒中 GSA 含量与 SnCl₂·2H₂O 含量均符合要求。根据药典方法测定无菌及细菌内毒

表 1 ⁹⁹Tc^m-GSA 的 ITLC 结果

展开剂	R _f			
	⁹⁹ Tc ^m O ₄ ⁻	⁹⁹ Tc ^m O ₂ ·xH ₂ O	⁹⁹ Tc ^m -DTPA	⁹⁹ Tc ^m -GSA
ACD	1.0	0.8~1.0	1.0	0
丙酮	1.0	0	0	0
生理盐水	1.0	0	1.0	0

素,检验合格。异常毒性实验:每只小鼠注射相当于成人剂量 1 000 倍的 GSA,小鼠全部存活 72 h 以上,未见任何不良反应。以上这些质量控制结果均符合中华人民共和国药典规定。药盒中加入 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4^-$ 洗脱液后,溶液无色澄清透明,pH 2.5~4.0,30 min 后放化纯度 $>96\%$ 。在 4℃放置 3 个月后,放化纯度仍无明显变化,长期的稳定性还在进一步实验中。

2.4 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 的生物性能

2.4.1 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 在正常小鼠体内的生物分布

湿法标记的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 在低剂量正常小鼠体内的生物分布数据示于图 2。由图 2 可见, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 在正常小鼠肝脏中有较高的初始摄取($84.14\pm 6.70\%$ ID/g),并在肝脏中有一定的保留,主要通过肝胆消化代谢,其在血液中清除较快,骨、肉中摄取均较低。在 30 min 时,肝脏摄取仍大于 70% ID/g,腹腔内肝脏附近其它脏器的摄取均较低,有利于肝显像时得到清晰的图像。在 30 min 时,肝和肾、肝和脾有较高的放射性摄取比(T/NT),分别为 5.6 和 14.4。

2.4.2 湿法标记的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 在正常小鼠体内的生物分布

低注射剂量组、高注射剂量组和抑制组的生物分布数据列于表 2。由表 2 可以看出,高剂量组与低剂量组相比,肝摄取明显降低。在 30 min 时,高剂量组肝摄取仅有 31.89

$\pm 2.38\%$ ID/g;而肾摄取明显增高,达到 $70.31\pm 12.28\%$ ID/g;同时血清清除减慢。这证实 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 作为受体显像剂在肝的摄取具有饱和性和抑制性。抑制组的结果表明,在初始阶段,抑制效果较明显,与低剂量组相比,30 min 时肝摄取降低了 27.6%。这说明通过预注射 GSA,可抑制 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 在肝中的摄取。

2.4.3 药盒法标记的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 在肝损伤模型小鼠体内的生物分布

肝损伤小鼠血清肝功能测定结果列于表 3。由表 3 可见,肝损伤模型小鼠血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)的数值较对照组小鼠略大,肝脏病理检查的结果示于图 3。图 3 表明,肝被膜下大量肝细胞坏死,被增生的纤维取代。以上结果证明已建立了小鼠肝损伤模型。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 在肝中摄取的降低,正是反映了 HBP 的活性降低即肝功能的异常。药盒法标记的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 在肝损伤模型小鼠体内的生物分布数据示于图 4。图 4 显示, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 在肝损伤模型小鼠的肝摄取为 $56.72\pm 5.92\%$ ID/g,低于对照组 $67.40\pm 4.94\%$ ID/g($P=0.0324$,统计分析均采用 GraphPad InStat 软件进行双尾 t 检验);肾摄取为 $8.96\pm 0.50\%$ ID/g,略高于正常小鼠 $7.26\pm 0.40\%$ ID/g($P=0.0150$),说明未被肝脏摄取的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 通过肾脏代谢出体外。

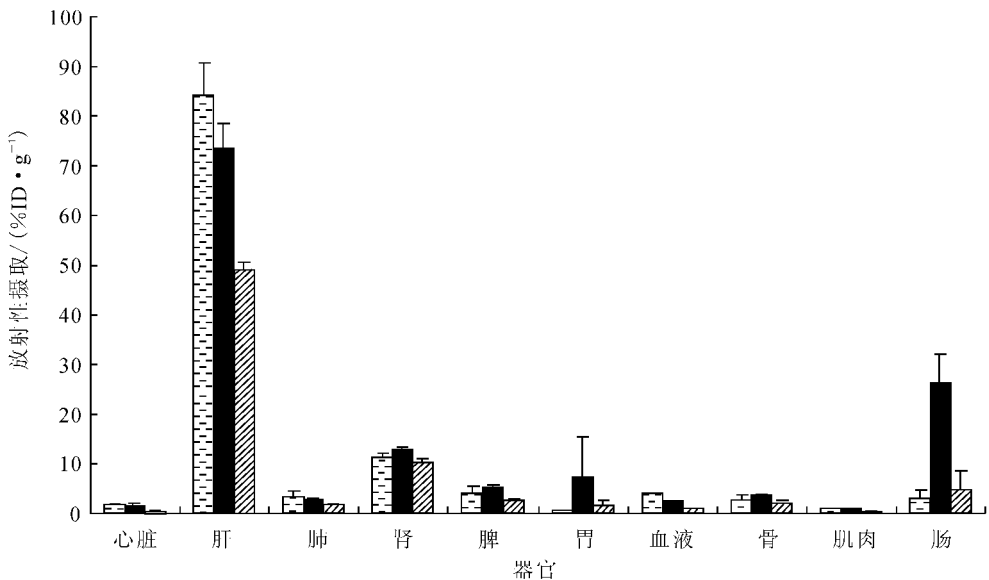


图 2 湿法标记的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -GSA 在正常小鼠体内的生物分布($\bar{x}\pm s, n=3$)

□——5 min; ■——30 min; ▨——120 min

表 2 ⁹⁹Tc^m-GSA 在低剂量组、高剂量组和抑制组小鼠体内的生物分布 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

器官	组别	不同注射时间(min) ⁹⁹ Tc ^m -GSA 的生物分布/(%ID · g ⁻¹)		
		5	30	120
心脏	LD	1.61±0.32	1.41±0.57	0.42±0.16
	HD	12.04±0.60	4.59±1.04	0.95±0.30
	Inhibit	4.20±0.36	1.37±0.06	0.61±0.22
肝	LD	84.14±6.70	73.44±5.01	48.96±1.79
	HD	23.43±1.20	31.89±2.38	23.62±4.23
	Inhibit	51.49±8.16	53.20±6.33	36.00±5.10
肺	LD	3.44±1.15	2.73±0.21	1.62±0.37
	HD	25.84±6.30	6.88±1.11	1.14±0.12
	Inhibit	12.18±2.81	2.53±0.56	1.23±0.10
肾	LD	11.39±0.65	12.92±0.50	10.21±0.87
	HD	57.98±2.86	70.31±12.28	39.21±20.53
	Inhibit	26.87±7.58	18.84±1.07	12.50±4.45
脾	LD	4.28±1.23	5.08±0.87	2.79±0.31
	HD	10.35±0.55	4.86±0.76	1.44±0.53
	Inhibit	8.46±1.23	5.58±1.90	3.17±1.71
胃	LD	0.63±0.17	7.34±8.01	1.60±1.12
	HD	2.42±0.75	2.33±0.91	1.65±1.41
	Inhibit	1.47±1.18	0.85±0.03	1.27±0.56
血液	LD	4.16±0.09	2.32±0.15	1.13±0.05
	HD	67.20±32.67	15.26±2.91	1.41±0.04
	Inhibit	20.79±3.70	3.02±0.51	1.44±0.14
骨	LD	2.63±0.99	3.34±0.52	2.22±0.53
	HD	9.08±2.89	3.77±1.34	1.86±1.14
	Inhibit	6.19±1.88	3.50±0.56	2.40±1.36
肌肉	LD	1.05±0.06	0.99±0.20	0.46±0.09
	HD	7.20±1.53	3.36±1.04	1.13±0.67
	Inhibit	1.68±0.67	0.91±0.39	0.30±0.09
肠	LD	3.17±1.65	26.15±5.76	4.88±3.68
	HD	5.43±1.79	14.46±10.11	5.57±1.09
	Inhibit	2.28±0.17	5.15±3.80	1.07±0.39

表 3 肝损伤组小鼠血清肝功能的测定

动物模型	ALB/ (g · L ⁻¹)	ALT/ (u · L ⁻¹)	AST/ (u · L ⁻¹)	TBil/ (μmol · L ⁻¹)
肝损伤小鼠	3.8	101	252	2.1
正常小鼠	3.6	42	192	1.8

3 小 结

根据文献报道合成了 GSA。在优化⁹⁹Tc^m-GSA 标记条件的基础上,制备了 GSA 一步法冻

干药盒。并对药盒进行了质量控制。通过对⁹⁹Tc^m-GSA 在正常小鼠和肝损伤模型小鼠体内的生物分布的研究,证实⁹⁹Tc^m-GSA 具有初始肝摄取高、T/NT 高等优点。但 CCl₄ 建立的肝损伤模型并不理想,肝损伤程度较小,通过尝试淤胆模型和肝癌模型,可以取得更显著的效果,目前进一步实验研究正在进行中。所得 GSA 药盒标记简单可靠,为进一步提供⁹⁹Tc^m-GSA 的临床研究及应用奠定了基础。

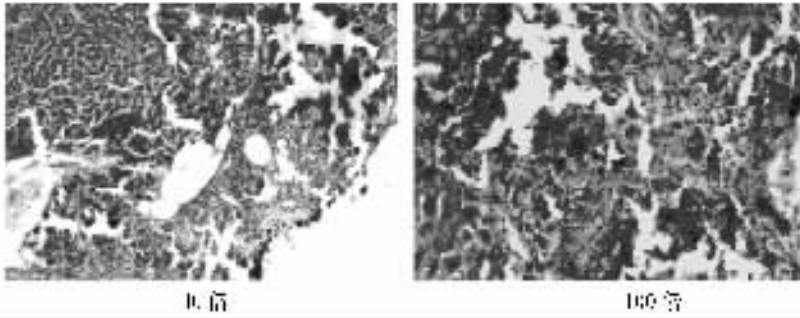


图 3 肝脏病理检查结果

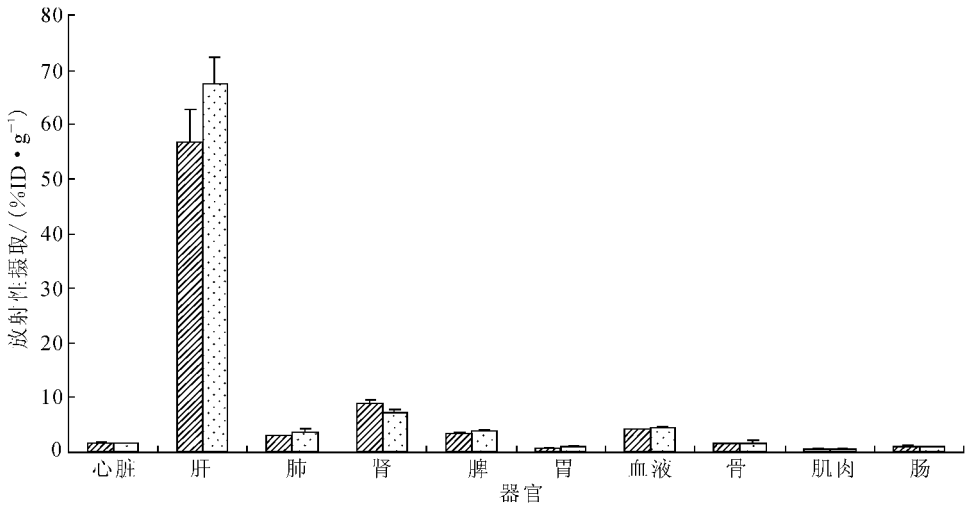


图 4 药盒法标记的⁹⁹Tc^m-GSA 在肝损伤模型小鼠体内的生物分布 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

▨——肝损伤组; ▩——对照组

参考文献:

[1] STADALNIK RC, VERA DR. The Evolution of ⁹⁹Tc^m-NGA as a Clinically Useful Receptor-binding Radiopharmaceutical [J]. Nucl Med Biol, 2001, 28:499-503.

[2] VERA DR, HOH CK, STADALNIK RC, et al. Handbook of Radiopharmaceuticals, Chichester; Radiopharmaceuticals for the Study of Liver and Renal Function[M]. John Wiley & Sons Ltd, 2003:795-822.

[3] 张涛,毛一雷. 肝去唾液酸糖蛋白受体显像:三维分段肝功能评估的前景[J]. 基础医学与临床, 2006,26:538-541.

[4] 毛一雷,张涛. 肝硬化患者术前肝功能评估方法的现状和进展[J]. 中国医学科学院学报, 2006, 28: 849-852.

[5] 毛一雷,张涛,桑新亭,等. 应用单光子发射型计算

机断层显像评价剩余肝功能的动物实验研究[J]. 中华外科杂志, 2007,45(9):609-611.

[6] VERA DR, STADALNIK RC, KROHN KA. Technetium-99m Galactosyl-Neoglycoalbumin; Preparation and Preclinical Studies[J]. J Nucl Med, 1985,26:1 157-1 167.

[7] KUBOTA Y, KOJIMA M, HAZAMA H, et al. A New Liver Function Test Using the Asialoglycoprotein-receptor System on the Liver Cell Membrane: I. Evaluation of Liver Imaging Using the Tc-99m-Neoglycoprotein[J]. Jpn J Nucl Med, 1986,23:899-905.

[8] KOKUDO N, VERA DR, MAKUUCHI M. Clinical Application of TcGSA [J]. Nucl Med Biol, 2003,30:845-849.

- [9] TORIZUKA K, HA-KAWA SK, IKEKUBO K, et al. Phase I Clinical Study on $^{99}\text{Tc}^m$ -GSA, a New Agent for Functional Imaging of the Liver[J]. Jpn J Nucl Med, 1991, 28; 1 321-1 331.
- [10] 李云春, 管昌田, 王全林. 肝受体显像剂 $^{99}\text{Tc}^m$ -DT-PA-NGA 的研制[J]. 华西医科大学学报, 1996, 27; 54-58.
- [11] SHERMAN M. Hepatocellular Carcinoma: Epidemiology, Risk Factors, and Screening [J]. Semin Liver Dis, 2005, 25(2): 143-154.
- [12] YUOH-FONG CHI, SHI-YUAN TSHIN. Thiazole Research: Synthesis of 2-Phthalimidomethyl-4-N-diethylamino-methylthiazole[J]. J Am Chem Soc, 1942, 64(1): 90-91.
- [13] LEE Y, STOWELL CP, KRANTZ MJ. 2-Imino-2-methoxyethyl 1-Thioglycosides: New Reagents for Attaching Sugars to Proteins[J]. Biochemistry, 1976, 15; 3 956-3 963.
- [14] WASHINO K, KURAMI M, UEDA N. Asialoglycoprotein Acceptor-directing Compound-chelate Conjugates, Their Complexes With Metallic Radioelements, and Their Use in Diagnosis and Therapy: EP, 273452 A2[P]. 1988-07-06.
- [15] DUBOIS M, GILLES KA, HAMILTON JK, et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances[J]. Anal Chem, 1956, 28; 350-356.
- [16] 许建明, 徐叔云, 张运芳, 等. 四氯化碳诱导小鼠肝纤维化模型的建立[J]. 中国药理学通报, 2000, 16; 339-341.
- [17] 刘晓丽, 刘春霞, 刘红军, 等. 小鼠四氯化碳急性中毒性肝损害模型制备方法探讨[J]. 新乡医学院学报, 2001, 18; 30-31.