

$^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ -DTPMP 的制备及其在小鼠体内的生物分布

何佳恒, 杨玉青, 王关全, 蒋树斌

(中国工程物理研究院 核物理与化学研究所, 四川 绵阳 621900)

摘要: 合成了具有亲骨性的氨基膦酸配体二乙基三胺基五亚甲基膦酸(DTPMP), 制备了 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP, 并研究其稳定性、亲脂性以及在小鼠体内的生物分布。结果表明, $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP 的制备方法简单, 稳定性好, 亲水, 标记率 $>95\%$; 在小鼠体内的生物分布表明, $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP 的靶向摄取率即骨摄取率较高, 注射 1 h 之后达 $(22.26 \pm 2.02)\% \text{ID/g}$, 是一种极具潜力的新型放射性药物。

关键词: $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$; DTPMP; 生物分布

中图分类号: O613; R817 文献标志码: A 文章编号: 1000-7512(2009)02-0076-05

Preparation and Biodistribution of $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ -DTPMP

HE Jia-heng, YANG Yu-qing, WANG Guan-quan, JIANG Shu-bin

(Institute of Nuclear Physics and Chemistry, China Academy of Engineering Physics, Mianyang 621900, China)

Abstract: DTPMP [Triethyleneteraamine Hexa(Methylene Phosphonic Acid)] was synthesized and radiolabeled with $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$. The preparation conditions, stability and lipophilicity of $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP were investigated. Biodistribution of $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP in mice was studied. It was found that the quantity of DTPMP and pH of the preparation solution had vital effects on the labeling yield of $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP, and $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP was hydrophilic and stable at room temperature and 37 °C in open air. The animal study showed that $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP had high bone uptake and bone-to-blood ratio in the mice, which is higher than that of $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPA and reached $(22.26 \pm 2.02)\% \text{ID/g}$ at 1 h. This made it potentially useful as a reagent for skeletal scintigraphy and radiotherapy of bone tumors.

Key words: $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$; DTPMP; biodistribution

骨无机相的主要成分为羟基磷灰石(HA), 磷(膦)类配体(配合物)对其有较强的趋附性^[1]。在合成新配体时, 为了提高配合物的稳定性, 常需要引入 N、O 类强配位原子, 如二乙三胺五乙酸(DTPA)、乙二胺四乙酸(EDTA)、2-N 羟乙基乙二胺三乙酸(HEDTA)等。文献[2-4]基于膦

类配体的亲骨性和 N、O 配位原子配合物的稳定性, 合成了 DTPA、EDTA、HEDTA 等配体并采用 ^{153}Sm 对其进行标记, 希望获得潜在的放射性药物。20 世纪 80 年代, 罗顺忠等^[5] 等合成了 EDTA 的膦酸衍生物乙二胺四甲基膦酸(EDTMP)及其 ^{153}Sm 配合物^[5]; 20 世纪 90 年代他们

又对其生物性质进行了研究^[6-7], 结果表明, ^{153}Sm -EDTMP 有很高的亲骨性。邓候富^[8]等则用 ^{153}Sm -EDTMP 成功治疗了多例转移性骨肿瘤患者。因此, 含 N、O 配位原子的膦酸配体配合物-胺基膦酸配合物是一类非常有潜力的骨肿瘤治疗药物^[9], 增加配体中磷酸根的个数可能会提高配合物在骨中的摄取, 因此, 本工作拟设计合成二乙基三胺基五亚甲基膦酸(DTPMP)。

为了避免或尽可能降低 ^{89}Sr 、 ^{153}Sm 、 $^{186,188}\text{Re}$ 及其标记化合物带来的骨髓抑制效应^[10-13], 同时保持或提高药物在靶组织(骨病灶)上的浓集率, 近十年来研究人员将关注热点转向了性质更加优良的 $^{117}\text{Sn}^m$ 。 $^{117}\text{Sn}^m$ 属于同质异能跃迁(Isomeric Transition, IT)衰变, 可发射能量为 158.6 keV 的 γ 射线, 有最低能量的电子, 但仍能穿透约 30 个细胞直径, 这样既能产生疗效又不伤及红骨髓; 此外, 较长的半衰期(13.6 d)为 $^{117}\text{Sn}^m$ 的商用提供了条件。目前涉及的配体主要有 PYP、EHDP、MDP、DTPA 等^[14-21]。本工作选用 $^{117}\text{Sn}^m$ 标记 DTPMP, 考察它的一些性质, 希望得到一种新的用于骨肿瘤治疗的放射性药物。

1 实验材料

$^{117}\text{Sn}^m$: 中国工程物理研究院核物理与化学研究所提供; 其余化学试剂均为国产分析纯或化学纯。实验所需用水均为二次水。

FJ-2021 型 γ 放射免疫计数器; 国营二六二厂; 170SX 型傅里叶变换红外光谱仪; 美国 Nicolet 公司; 德国 Vario EL III 元素分析仪; 北京中科华星科贸有限公司; WRS-1A 毛细管数字式熔点仪; 上海物理光学仪器厂; CAPINTEC CRC-15R 放射性活度测量仪; Denver Instru-

ment 公司; Helix Apex 双探头 SPECT 仪; 以色列 Elscint 公司。

昆明种小白鼠, 75 只, 体重 (18 ± 2) g, 雌雄各半, 一级, 均由四川大学华西医学中心动物实验中心提供。

2 实验方法

2.1 DTPMP 的制备

DTPMP 的合成路线示于图 1。在三颈瓶中加入二乙烯三胺、亚磷酸、浓盐酸, 95°C 水浴加热回流搅拌, 经恒压进样器缓慢滴加 36% 的甲醛水溶液, 体系经 Mannich 反应^[18] 即制得 DTPMP。产品经红外、元素分析表征。

2.2 $^{117}\text{Sn}^m$ (II) 的制备

本工作采用了天然丰度金属锡 ^{116}Sn 、 ^{112}Sn 为靶料, 其丰度分别为 14.54% 和 0.97%。截面分别为 $0.13 \times 10^{-28} \text{ m}^2$, $0.71 \times 10^{-28} \text{ m}^2$ 。将 0.1 g 靶料置于铝桶中, 封口后送入本所 300 号反应堆, 在中子注量率为 $4 \times 10^{13}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1})$ 下照射 90 h。将辐照后的靶料冷却 12 h 后即可取出^[23]。

将辐照后的锡粉末在氮气保护下用 3.5 mL 浓盐酸微热约 40°C 熔解, 充分熔解后用蒸馏水稀释。用铈滴定法测定 $^{117}\text{Sn}^m$ (II) 转化率。经过相同情况下熔解非放射性锡粉测验, 转化率 $>95\%$ 。

2.3 $^{117}\text{Sn}^m$ (IV)-DTPMP 的制备

将 DTPMP 稍加热, 使之溶于水, 用 2 mol/L NaOH 调 pH 约为 7。室温下加入 $^{117}\text{Sn}^m$ (II), DTPMP 与 $^{117}\text{Sn}^m$ (II) 的摩尔比 ≥ 10 。充分反应后, 加入 10 倍锡量的 H_2O_2 , 0.5 h 后, 加热以赶走多余的 H_2O_2 。纸层析法测定标记物的标记率。

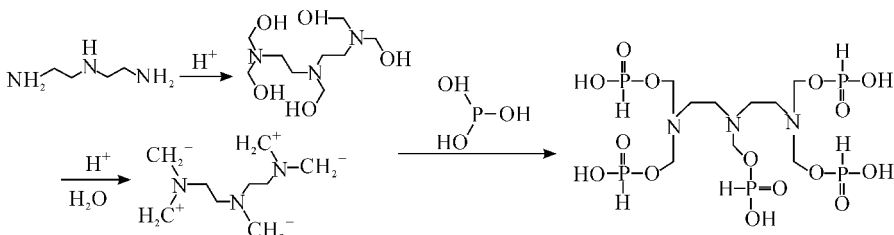


图 1 DTPMP 合成路线图

2.4 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}(\text{IV})\text{-DTPMP}$ 的稳定性及亲脂性

将制得的 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}(\text{IV})\text{-DTPMP}$ 分别置于室温(约 25 ℃)和 37 ℃,用纸层析法检测放化纯度随时间的变化。

将制得的 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}(\text{IV})\text{-DTPMP}$ 用生理盐水缓冲液(pH 为 7)稀释至 3 mL,再加入 3 mL 正辛醇,振荡离心,取 2 mL 下层的水相至测量管中放置,测量计数。在有机相中再加入 3 mL 生理盐水振荡离心,弃去水相,如此反复不少于 5 次,最后取 2 mL 有机相测量计数。分配系数 $K_{\text{ow}} = C_{\text{O}}/C_{\text{W}} = N_{\text{O}}/N_{\text{W}}$,其中 C_{O} 为配合物在正辛醇相中的浓度; C_{W} 为配合物在水相的浓度; N_{O} 为正辛醇相中放射性总计数; N_{W} 为水相中放射性总计数。

2.5 动物实验

取 75 只小白鼠,随机分成 3 组,每组再随机分成 5 批,每批 5 只。每组由尾静脉注射 0.1 mL 相同剂量的标记物。于不同时间将小鼠断头处死,取感兴趣脏器称量,测其放射性,计算每克组织的放射性摄取(%ID/g)。

3 结果与讨论

3.1 DTPMP 的表征

DTPMP · H₂O 的熔点分析结果为 108.47 ~ 110.95 ℃。

DTPMP 元素分析结果列于表 2。DTPMP 的红外光谱示于图 2。化合物的所有特征吸收都有出现,和 P 原子相连的—CH₂的伸缩振动出现在 2 815 cm⁻¹附近;叔氨基上的—CH₂的伸缩振动出现在 2 780 cm⁻¹附近;—CH₂的变形振动吸收带出现在 1 450 cm⁻¹附近;磷酸基 P=O 的伸缩振动吸收出现在 1 163 cm⁻¹。结合元素分析结果说明,配体 DTPMP 的合成成功。

表 2 DTPMP 的元素分析

元素	含量/%	
	计算值	测量值
N	7.11	7.21
C	18.27	18.27
H	5.08	5.04
P	26.23	25.73

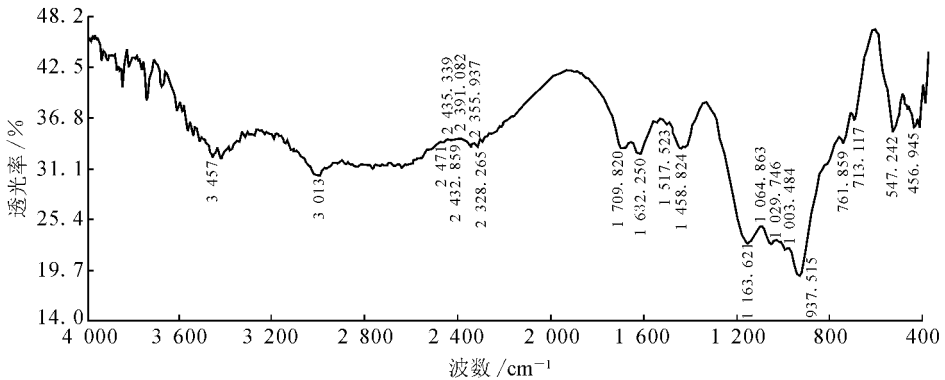


图 2 DTPMP 的红外光谱

3.2 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}(\text{IV})\text{-DTPMP}$ 的标记率

将所制备的 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}(\text{IV})\text{-DTPMP}$ 点样于 Whatman 层析纸上,在生理盐水和丙酮两种展开体系中展开。其中在生理盐水中,水解锡在 原点, $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}(\text{IV})\text{-DTPMP}$ 在 前沿;在丙酮中,水解锡和 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}(\text{IV})\text{-DTPMP}$ 都在 原点,所以将层析纸在两种展开剂中分别展开。

DTPMP 与 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}(\text{IV})$ 的标记条件温和,在室温下反应 15 min,标记率 > 95%。配体量和酸度对溶液的外观影响很大,为了避免锡的水解,需要配体量的摩尔比 10 倍于 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ 以上,充

分反应后缓慢调节溶液的酸度约为 7,否则配体量不足容易导致多余的锡水解。调节溶液的酸度不要幅度过大,要尽量避免将溶液的酸度调到碱性,争取缓慢从酸性调节到 7 左右备用。因为在碱性条件下,锡的配合物也很容易水解,并且随着碱性增大,配合物的水解程度加剧。水解所形成的微小的胶状物 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}\text{O}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O} \cdot y\text{DT-PMP}(x \geq 0, y \geq 0)$ 很容易滞留在动物的肝部,对非靶组织造成不必要的损伤,使靶向组织的疗效受到影响。

3.3 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP 的稳定性和亲脂性

将标记物在室温下放置 5 d, 放化纯度仍 > 95%, 考虑到人体正常体温约为 37 °C, 将标记物放置在 37 °C 的恒温水浴槽中, 8 h 后测得放化纯度仍 > 95%。较好的稳定性为进一步的生物性质研究提供了保证。

脂水分配系数与生物体内肝脏对该配合物的摄取存在正相关关系, 与配合物的血清除存在一定的负相关^[24-25] 关系。 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV) 的脂水分配系数为 3.72×10^{-3} , $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP 的脂水分配系数为 4.38×10^{-4} 。此结果表明, $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV) 和 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP 均为亲水性配合物。

3.4 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP 的动物实验

$^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ -DTPMP 小鼠体内分布示于图 3。由图 3 可见, $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ -DTPMP 在注入小鼠体内 1 h 时骨中摄取率较高, 达 $(22.26 \pm 2.02)\% \text{ID/g}$, 2~48 h 基本保持恒定, 维持在约 16%ID/g。

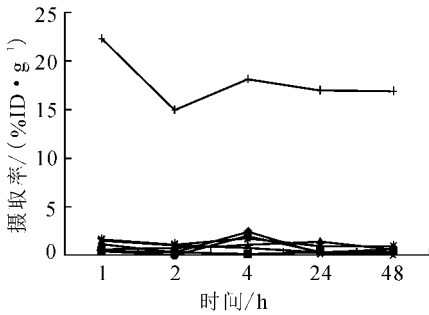


图 3 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ -DTPMP 的小鼠体内分布

表 4 两种 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV) 配合物在骨中的浓集率 ($n=5$)

时间/h	骨中的浓集率/(%ID·g ⁻¹)	
	$^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP	$^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPA ^[14-15]
1	22.26 ± 2.02	8.55 ± 1.31
2	14.91 ± 0.78	12.72 ± 1.50
4	18.08 ± 1.33	12.29 ± 0.24
24	16.97 ± 0.58	6.625 ± 0.86
48	16.91 ± 0.47	5.336 ± 0.35

表 4 同时将国外正在进行临床研究的 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPA^[14-15] 在小鼠骨骼上的分布列出, 为了尽可能减少不同实验操作条件下的误差, 对比实验使用的 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ -DTPA 为与 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP 相同实验条件下制备而成, 并同时进行了动物实验。由表 4 可知, $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP 表现出较高的骨摄取。

4 结 论

合成的 DTPMP 满足实验需要。磷酸化合物与 DTPA 化合物相似但不相同, 推测充当配体的磷酸化合物对骨的结合有一定贡献。

$^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV) 与 DTPMP 的标记条件温和, 在室温下反应 15 min, 标记率 > 95%, 在制备时要注意加入的配体量和酸度的调节。标记物在室温 (约 25 °C) 及 37 °C 下都很稳定, 脂水分配系数的测定表明它具有一定的亲水性。动物实验结果表明, $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPMP 表现出较好的骨定位, 且血液、肌肉、肾和肝的摄取也比较低; 骨骼对配合物的吸收非常快, 且注射较长时间后仍保持较高水平, 平均水平高于目前国外正在进行临床研究的 $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPA。以上结果表明, $^{117}\text{Sn}^{\text{m}}$ (IV)-DTPA 有用于肿瘤治疗的可能性, 值得进一步研究。

参考文献:

- [1] John WT, Leonard IW, Antoine AV. High specific activity [¹⁵³Samarium-153] EDTA for imaging of experimental tumor models[J]. J Nucl Med, 1989, 30(2): 202-208.
- [2] Turner JH, Martindale AA. Samarium-153 chelate localization in malignant melanoma[J]. Eur J Nucl Med, 1987, 13: 432-438.
- [3] O'Mara RE, Meafee JG, Subramanian G. Rare earth nuclide as potential agents for skeletal imaging[J]. J Nucl Med, 1969, 10(1): 49-51.
- [4] Goeckeler WF, Edwards B, Volkert WA, et al. Skeletal localization of samarium-153 chelates: potential therapeutic bone agents[J]. J Nucl Med, 1987, 28(4): 495-504.
- [5] 罗顺忠, 蒲满飞, 李玉谦, 等. 骨肿瘤治疗药物的研究: ¹⁵³Sm 及 ¹⁵³Sm-EDTMP 的制备[J]. 核化学与放射化学, 1991, 13(4): 233-236.
- [6] 罗顺忠, 蒲满飞, 谯健, 等. 骨肿瘤治疗药物的研究: ¹⁵³Sm-EDTMP 的生物性质评价[J]. 核化学与放射化学, 1994, 16(2): 96-101.
- [7] 罗顺忠, 谯健, 蒲满飞, 等. ¹⁵³Sm-EDTMP 在羟基磷灰石上的吸附[J]. 核技术, 1996, 19(4): 236-240.
- [8] 邓候富, 谭天序, 匡安仁, 等. 新的骨显像及骨肿瘤治疗剂 ¹⁵³Sm-EDTMP 的初步应用[J]. 中华核医学杂志, 1992, 12(1): 27-29.
- [9] Subramanian G, McAfee TG, Thomas FD, et al. New diphosphonate compounds for skeletal ima-

- ging: comparison with methylene diphosphonate [J]. *Radiol*, 1983, 149(3): 823-829.
- [10] 樊卫, 曾宗渊, 罗国平, 等. 钇 153-乙二胺四甲撑膦和氯化锶对多发性骨转移患者免疫状态的影响[J]. *核技术*, 2000, 23(5): 329-333.
- [11] Laing AH, Ackery DM, Bayly RJ, et al. Sr-89 chloride for pain palliation in prostate skeletal malignancy[J]. *Br J Radiol*, 1991, 64: 816-822.
- [12] Lewington VJ, Mcewan AJ, Ackery DM, et al. A prospective randomized the efficacy of Sr-89 in pain palliation in patients with advanced prostate cancer metastatic to bone[J]. *Eur J Cancer*, 1991, 27: 954-958.
- [13] Maxon HR III, Schroder LE, Thomas SR, et al. Re-186(Sn) HEDP for treatment painful osseous metastases, initial clinical experience in patients with hormone-resistant prostate cancer[J]. *Radiology*, 1990, 176: 155-159.
- [14] Atkins HL, Mausner LF, Srivastava SC, et al. Biodistribution of $^{117}\text{Sn}^m(4+)$ DTPA for Palliative Therapy of Painful Osseous Metastases[J]. *Radiology*, 1993, 186: 279-283.
- [15] Krishnamurthy GT, Swailem FM, Walsh TK. Pharmaco-kinetics of $^{117}\text{Sn}^m(4+)$ DTPA in patients with multiple metastatic bone pain[J]. *J Nucl Med*, 1995, 117: 30.
- [16] Oster ZH, Som P, Srivastava SC, et al. The development and in-vivo behavior of tin containing radiopharmaceutical: II. autoradiographic and scintigraphic studies in normal animals and in animal models of bone disease[J]. *Int J Nucl Med Biol*, 1985, 12(3): 175-184.
- [17] 何佳恒, 罗顺忠, 杨玉青, 等. $^{117}\text{Sn}^m$ 标记 HEDTMP 的研究[J]. *核化学与放射化学*, 2002, 24(4): 236-239.
- [18] He Jiaheng, Luo Shunzhong, Jiang Shubin, et al. Preparation and properties of $^{117}\text{Sn}^m(\text{IV})$ -TTHMP in in-vitro and in small animals[J]. *Nucl Sci Tech*, 2007, 6: 1-5.
- [19] 何佳恒, 李首建. $^{117}\text{Sn}^m$ 在肿瘤治疗中的应用[J]. *化学研究与应用*, 2007, 19(6): 583-588.
- [20] 何佳恒, 王关全, 蒋述斌, 等. $^{117}\text{Sn}^m$ -TTHMP 的制备及生物性质研究[J]. *化学研究与应用*, 2006, 18(10): 1162-1166.
- [21] 何佳恒, 陈雅宏, 肖洋峰, 等. 酶解沉积放射性肿瘤药物前体的合成研究[J]. *化学研究与应用*, 2007, 19(8): 886-888.
- [22] 印永嘉, 顾月姝, 陈德昌, 等. 大学化学手册[M]. 山东: 科学技术出版社, 1985: 2.
- [23] 蒲满飞, 罗顺忠, 杨玉青, 等. $^{117}\text{Sn}^m(^{113}\text{Sn})(\text{IV})$ -四(4-磺酸苯基)卟啉的制备[J]. *核化学与放射化学*, 2006, 28(2): 111-116.
- [24] Abrams MJ, Murrer BR. *Advances in metals in medicine* [M]. London: JAI Press Inc, 1993: 134-135.
- [25] 蒋树斌. ^{99m}Tc -HEDTMP, ^{153}Sm -HEDTMP, $^{186,188}\text{Re}$ -HEDTMP 的合成与性质研究[D]. 绵阳: 中国工程物理研究院, 2000.