

DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK



(12) Wirtschaftspatent

Teilweise bestätigt gemäß § 18 Absatz 1
Patentgesetz

A 61 K 51 / 00 A 49

PATENTSCHRIFT

(19) **DD** (11) **127 200 B1**

4(51) C 07 B 59/00

~~A 61 K 49/02~~

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

(21) WP C 07 B / 193 816 1

(22) 13 07 76

(45) 11 06 86

(44) 14.09 77

(71) Akademie der Wissenschaften der DDR, 1199 Berlin, Rudower Chaussee 5, DD

(72) Munze, Rudolf, Prof Dr habil Dipl -Chem , DD

(54) Verfahren zur Markierung organischer Stoffe mit Technetiumisotopen

ISSN 0433-6461

3 Seiten

Erfindungsanspruch

- 1 Verfahren zur radiochemischen Markierung von organischen Substanzen, insbesondere Metaboliten des Zellstoffwechsels, die mindestens zwei unmittelbar benachbarte Hydroxylgruppen oder mindestens eine enolische Hydroxylgruppe enthalten, mit Isotopen des Technetiums unter Verwendung von Sn(II)-Salzen als Reduktionsmittel, gekennzeichnet dadurch, daß die Komponenten in alkalischer Lösung bei einem pH-Wert zwischen 11 und 12 zusammengegeben werden und nach Ablauf der Markierungsreaktion der gewünschte pH-Wert eingestellt wird
- 2 Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Markierungsreaktion erst am Ort der Anwendung durch Zusatz einer Lösung der Tc-Verbindung zu der in fester, vorzugsweise lyophilisierter, Form hergestellten Mischung des organischen Stoffes mit einem alkalischen Puffer und dem Reduktionsmittel erfolgt

Anwendungsgebiete der Erfindung

Die Erfindung betrifft die Markierung organischer Stoffe, insbesondere der Metaboliten des Zellstoffwechsels, welche mindestens zwei unmittelbar benachbarte Hydroxylgruppen, mindestens eine enolische Hydroxylgruppe oder mindestens eine α -Oxycarbonsäuregruppe enthalten und unter anderen in Form von Alkoholen, Zuckern, Zuckerderivaten wie Nucleinsäurebausteinen, Nucleoproteiden, Aminosuktern, Polysacchariden, Glykosiden sowie Konjugaten von Steroiden, Hormonen, Pharmaka, Drogen und aromatischen einschließlich heterozyklischen Hydroxylverbindungen oder α -Oxycarbonsäuren auftreten, mit Isotopen des Technetiums. Derartige markierte Substanzen werden als radioaktive Spürstoffe in der Medizin und Biologie zur szintigraphischen und/oder autoradiographischen Lokalisation von Konzentrationen dieser Stoffe in Organismen, Organen, Geweben und Zellen in großem Umfang benötigt

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Aus der Literatur sind Verfahren zum Markieren mit ^{99m}Tc beziehungsweise zur Herstellung von injizierbaren Präparaten der Tc 99m bekannt geworden, mit denen überwiegend nur solche Verbindungen mit Technetiumisotopen markiert werden konnten, welche sich durch saure Substituenten auszeichnen (DT-OS 2534985, DT-OS 2322758). Die Markierung erfolgte unter Zurückdrängung einer Hydrolyse durch Reaktion eines Gemisches der zu markierenden Substanz mit einem überwiegend Zinn-II- enthaltenden Reduktionsmittel sowie einer neutralen bis schwach sauren Lösung einer Verbindung des Technetiumisotopes.

Eine sehr breite Gruppe biologisch aktiver Verbindungen, deren Markierung mit Technetiumisotopen aus Gründen der überwiegenden strahlenphysikalischen Eigenschaften des Tc in bezug auf die Güte der szintigraphischen Abbildung sowie der minimalen Strahlenbelastung wünschenswert ist, enthält als essentielle Molekülbestandteile aliphatische oder aromatische Polyhydroxyverbindungen (Polyole), deren Markierung nach bekannten Verfahren nur dann zum Ziel führt, wenn das Molekül gleichzeitig über unmittelbar benachbarte stark saure Gruppierungen verfügt (J. Nucl. Med. 7 [1966] 364 u. Nature 215 [1967] 1397).

Bei wenigen weiteren biologisch aktiven Polyolen konnten nur teilweise Markierungen erzielt werden (Richards u. Steigman, Internat. Sympos. on Radiopharmaceuticals, Atlanta, Georgia Febr. 12-15, 1974). Insgesamt gesehen sind somit bisher keine Verfahren bekannt geworden, die eine reproduzierbare Markierung mit hoher Ausbeute für die Gesamtheit der eingangs genannten Stoffe ermöglichen.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, eine in-vivo Signalisation von Veränderungen der biochemischen Reaktionslage zu ermöglichen, um damit alle pathologischen Zustände, die sich letztlich in histologischen und anatomischen Veränderungen äußern, durch Signalisation und Lokalisation der sie begleitenden Abweichungen der biochemischen Zellreaktionen und der biologischen Regulation frühzeitig und sicher diagnostizieren zu können.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Ausgehend von dem gestellten Ziel liegt der Erfindung die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zu schaffen, welches die Markierung organischer Stoffe, insbesondere der Metaboliten des Zellstoffwechsels mit Tc bei Gewahrung einer hohen Markierungsrate ermöglicht und welches eine Markierung am Ort der Anwendung gestattet.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß der zu markierende organische Stoff mit einer Verbindung des Technetiums sowie einem Reduktionsmittel dessen Standardpotential kleiner 0 Volt ist, in einer alkalischen reagierenden Puffer zusammengeführt werden. Bei dem einzustellenden pH-Wert 11-12 erfolgt dann die Markierungsreaktion mit außerordentlich hoher Ausbeute (90-99%). Anschließend wird durch Zugabe einer physiologisch unbedenklichen Säure oder eines Puffers der physiologische pH-Wert eingestellt. Das Präparat ist damit für die Injektion fertig.

Um die in der medizinischen Praxis gewünschte Markierung am Ort der Anwendung bequem vornehmen zu können, wird vorteilhaft eine Mischung des organischen Stoffes mit dem alkalischen Puffer und dem Reduktionsmittel in fester, vorzugsweise lyophilisierter Form hergestellt und in Ampullen, CarpuLEN o. ä. abgepackt. Die Markierungsreaktion selbst wird erst unmittelbar vor der Injektion durch Zugabe einer Lösung der Technetiumverbindung, welche beispielsweise von einem der bekannten Tc-Generatoren gewonnen wird, durchgeführt.

Um die mit dem erfindungsgemäßen Verfahren erzielbaren hohen Markierungsausbeuten auch auf nicht über die zur Markierung erforderlichen Hydroxylgruppen verfügende ungesättigte organische Stoffe übertragen zu können, besteht die Möglichkeit, diese durch geeignete chemische Reaktion zu hydroxylieren und damit diesem Markierungsverfahren zugänglich zu machen.

Ausführungsbeispiele

Die Erfindung soll nachstehend anhand einiger konkreter Ausführungsbeispiele näher erläutert werden

1 Beispiel

10–100 mg Saccharose werden in 1 ml einer Lösung gegeben, die 5 bis 50 g Na_2HPO_4 im Liter enthält und mit NaOH auf einen pH-Wert von 11–12 eingestellt wird. Zu dieser Lösung wird das Natriumpertechnetat, als neutrales Generatoreluat (3–5 ml), gegeben. Die Reduktion und Markierung erfolgt durch Zusatz von 20–100 μg eines Sn-II-Salzes vorzugsweise SnCl_2 in verdünnter Säure oder Stannit. Die Lösung der ^{99}Tc -markierten Saccharose wird durch Hinzufügen der notwendigen Menge an NaHCO_3 in fester Form oder als Lösung auf einen pH-Wert von 8 eingestellt und kann so verwendet werden. Die Markierungsausbeute wird in üblicher Weise durch Dunnschicht- oder Gelchromatographie bestimmt. Sie liegt über 90%.

2 Beispiel

25 mg Adenosin werden in 0,2 ml eines auf pH 11 eingestellten Natriumphosphatpuffers, der Na_2HPO_4 zu 20 g/l enthält, gegeben. Nach Hinzufügen der Natriumpertechnetatlösung wird wie unter 1 mittels Sn-II-Verbindungen reduziert und markiert. Die Einstellung des physiologischen pH-Wertes erfolgt wie unter 1.

3 Beispiel

25 mg löslicher Stärke werden in 5 ml Wasser durch Erwärmen gelöst, diese Lösung durch Zugabe des unter 2 beschriebenen Phosphatpuffers oder mit NaOH auf einen pH von 11–12 eingestellt und die oben erwähnte Menge an Reduktionsmittel zugegeben. Die Reduktion und Markierung erfolgt durch langsamen Zusatz der neutralen Natriumpertechnetatlösung. Nach der Markierung wird mit NaHCO_3 oder Säure auf pH 7–8 eingestellt.

4 Beispiel

Von einer Lösung, die 10^{-3} bis 10^{-4} Mol markierungsfähige OH-Gruppen in Form eines beliebigen Polyols, beispielsweise die unter 1–2 genannten Verbindungen, 20–50 mg Na_2HPO_4 sowie 20–100 μg eines alkalisch löslichen Sn-II-Salzes in ml enthält und die auf einen pH-Wert von 11–12 eingestellt wurde, werden jeweils 1 ml in Ampullen, Stechfläschchen oder Carpuen abgefüllt, im Vakuum gefriergetrocknet und unter Luftabschluß und sterilen beziehungsweise aseptischen Bedingungen verschlossen. Die Markierung erfolgt am Ort der Verwendung durch langsame Zugabe von 3–5 ml einer neutralen Pertechnetatlösung, die als Generatoreluat gewonnen wurde. Nach der Markierung wird das fertige Produkt durch Zusatz steriler NaHCO_3 -Lösung auf pH 7–8 eingestellt.

5 Beispiel

Zur Markierung einer ungesättigten Verbindung beispielsweise einer Fettsäure werden 10^{-3} – 10^{-4} Mol der freien Säure oder des Salzes auf bekannte Weise beispielsweise durch Reaktion mit Benzoylperoxid in das entsprechende Glycolderivat überführt und dieses Produkt entsprechend den Ausführungsbeispielen 1–4 markiert.

6 Beispiel

10–50 mg α -Oxi-iso-buttersäure wird mit 0,5 ml einer 0,5 n KOH gelöst und 0,1–0,5 mg siebenwertiges Technetium in Form des $\text{Na}^{99}\text{TcO}_4$ zugegeben. Die Reduktion und Markierung erfolgt durch Zusatz von Stannitlösung (0,4–2 mg Sn II). Die Bildung der Komplexverbindung wird durch eine tiefblauviolette Verfärbung der Lösung angezeigt.

Für die pharmazeutische Anwendung der erfindungsgemäß hergestellten Tc-markierten Verbindungen ergeben sich zahlreiche neue Möglichkeiten, die unter anderem in folgendem bestehen:

- Nuklearpharmaka zur Untersuchung der Nierenfunktion auf der Basis ^{99}mTc -markierter Mono- und Oligosaccharide sowie des markierten Inulins
- Nuklearpharmaka zur Untersuchung der erhöhten Reduplikation in Tumorgewebe auf der Grundlage ^{99}mTc -markierter Nukleoside und Nukleotide
- Nuklearpharmaka zur Untersuchung von pathologischen Veränderungen des Stützgewebes durch Verwendung ^{99}mTc -markierter Aminosäuren und Mucosaccharide
- Radioimmunologische Nachweismethoden für körpereigene Wirkstoffe, Pharmaka und Drogen auf der Grundlage markierter Konjugate derselben mit Kohlehydraten als kompetitive Antigene

Die Erfindung wurde am Beispiel bevorzugter Anwendungsausführungen und beispielsweise Stoffen erläutert. Es ist jedoch dem Fachmann klar, daß das erfindungsgemäße Prinzip in vielerlei Hinsicht abgeändert und modifiziert werden kann, ohne daß der Rahmen der vorliegenden Erfindung verlassen wird.