SYNTHESIS OF TECHNETIUM-99m-LABELED BIOTINYL-HYDRAZINO-EDTA (EB1) : RADIOCHEMICAL PURITY AND STABILITY

BOON-UMA JOWANARIDHI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(RADIOLOGICAL SCIENCE)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2006

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การสังเคราะห์ ^{99m}Tc-Biotinyl-hydrazino-EDTA (EB1) : ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีและความคงตัว
(SYNTHESIS OF TECHNETIUM-99m-LABELED BIOTINYL-HYDRAZINO-EDTA (EB1) : RADIOCHEMICAL PURITY AND STABILITY)

บุญอุมา เชาวน์ฤทธิ์ 4536471 SIRS/M

วท.ม. (วิทยาศาสตร์รังสี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : นภมน ศรีตงกุล, M.Sc. (Biochem.), มลุลี ตัณฑวิรุฬห์, M.Sc. (Med.Phys.), M.S. (Nucl.Med.), นิภาวรรณ ปรมาธิกุล, M.S. (Radiopharmacy), M.E. (Nucl.Tech.)

บทคัดย่อ

การติดเชื้อเป็นกระบวนการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบแบบเฉียบพลันในร่างกาย และได้มีการนำสารที่มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับเนื้อเยื่อบริเวณที่เกิดการอักเสบ ไปใช้ประโยชน์ในการระบุตำแหน่งที่เกิดการติดเชื้อ อนุพันธ์ของไบโอติน และอะวิดินหรือสเตรพทาวิดินเป็นหนึ่งในสารที่นำไปใช้ประโยชน์ในการระบุตำแหน่งของการอักเสบและการติดเชื้อได้

วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ เพื่อสังเคราะห์ไบโอตินิล-ไฮดราซิโน-อีดีทีเอ (อีบี1) และหาสภาวะที่เหมาะสมในการติดฉลาก ให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีและความคงตัวสูง อีบี1 ถูกสังเคราะห์ขึ้นจากปฏิกิริยาการรวมตัวกันของไบโอตินไฮดราไซด์กับอีดีทีเอไบไซคลิกแอนไฮไดรด์ ซึ่งปัจจัยที่นำมาพิจารณาในการหาสภาวะที่เหมาะสมของการติดฉลาก ได้แก่ ตัวทำละลาย ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณสแตนนัสคลอไรด์ซึ่งเป็นตัวรีดิวส์ ความแรงรังสี และปริมาตรรวมของปฏิกิริยา โดยให้ได้ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีไม่น้อยกว่าร้อยละ 95 และคงตัวอยู่ได้นาน 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง

ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการติดฉลาก คือ ใช้ปริมาณอีบี1 100 ไมโครกรัม ต่อน้ำกลั่นสำหรับฉีด 10 ไมโครลิตร ที่มีสแตนนัสคลอไรด์ 2 ไมโครกรัม สามารถติดฉลากกับสารละลายเทคนิเชียม-99เอ็ม ด้วยความแรงรังสีไม่เกิน 2 มิลลิคูรี ในปริมาตรรวม 100 ไมโครลิตร ซึ่งภายใต้สภาวะดังกล่าว ได้สารเภสัชรังสีที่มีความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีมากกว่าร้อยละ 95 และมีความคงตัวภายในระยะเวลา 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง แม้ว่าผลจากนิวเคลียร์แมกเนติกรีโซแนนซ์สเปกโตรเมตรี และแมสสเปกโตรเมตรีของอีบี1 จะพบสารที่ไม่ต้องการเกิดขึ้นในปฏิกิริยาก็ตาม และได้ทำการทดสอบการเกิดสารประกอบของอะวิดินกับไบโอติน เพื่อยืนยันว่าสารเภสัชรังสีที่เตรียมได้มีส่วนของไบโอตินอยู่ในโมเลกุล ดังนั้นจึงควรมีกระบวนการทำให้สารที่สังเคราะห์ได้เกิดความบริสุทธิ์ ก่อนนำไปติดฉลากกับสารรังสี เช่น การตกผลึกใหม่ หรือการใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี

สำหรับการศึกษาในขั้นต่อไป ควรมีการศึกษาถึงความคงตัวและการกระจายตัวของสารประกอบรังสีในสัตว์ทดลองต่อไป

70 หน้า

SYNTHESIS OF TECHNETIUM-99m-LABELED BIOTINYL-HYDRAZINO-EDTA (EB1) : RADIOCHEMICAL PURITY AND STABILITY

BOON-UMA JOWANARIDHI 4536471 SIRS/M

M.Sc. (RADIOLOGICAL SCIENCE)

THESIS ADVISORS: NOPAMON SRITONGKUL, M.Sc. (BIOCHEM.), MALULEE TANTAWIROON, M.Sc. (MED.PHYS.), M.S. (NUCL.MED.), NIPAVAN PORAMATIKUL, M.S. (RADIOPHARMACY), M.E. (NUCL.TECH.)

ABSTRACT

Infection stimulates an acute inflammatory process in the body, and agents having an affinity for inflamed tissue are very useful in localizing active sites of infection. Biotin derivatives and avidin or streptavidin are some of the most useful agents which have been studied for infection or inflammatory localization.

The purpose of this study was to synthesize an in-house biotinyl-hydrazino-EDTA (EB1) and to optimize conditions for ^{99m}Tc labeling, leading to a labeled product with high radiochemical purity (RCP) and high stability. The EB1 was synthesized by the coupling reaction of biotin hydrazide and EDTA bicyclic anhydride. The investigation of influencing factors for labeling were solvent, pH, stannous chloride quantity, amount of radioactivity and total volume of reaction. Standard chromatography techniques (paper and TLC) were used for determining the RCP of labeled compound. The RCP > 95% with no significant fall within 3 hours after labeling, at room temperature, indicating a good stability.

The experimental results showed that the optimization of radiolabeling was 100 µg EB1 in 10 µl sterile water for injection containing 2 µg of $SnCl_2$ with maximum activity of 2 mCi ^{99m}Tc in total volume of 100 µl. Under this condition, the labeled compound can remain stable for up to 3 hours at room temperature. Even though the result of NMR and MS of EB1 showed the presence of some undesired products in the preparation, the assessment test of avidin binding-shift assay proved that biotin was still a part of the EB1 complex. Therefore, purification process by recrystallization or High Performance Liquid Chromatography should be performed before radiolabeling.

Not only in vivo stability but also biodistribution in animals should be evaluated for further clinical application.

KEY WORDS : INFLAMMATION / RADIOLABELING / AVIDIN-BIOTIN / RADIOCHEMICAL PURITY

70 P.