

# $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液放化纯与体内显像效果关系的研究

贾娟娟<sup>1</sup> 党永红<sup>2</sup> 孙得洋<sup>1</sup> 孙葭北<sup>1</sup> 程茗<sup>1</sup> 霍力<sup>2</sup> 施亚琴<sup>1</sup>

<sup>1</sup>国家药品监督管理局化学药品质量研究与评价重点实验室;中国食品药品检定研究院抗肿瘤和放射性药品室,北京 102629;<sup>2</sup>中国医学科学院、北京协和医学院北京协和医院核医学科、核医学分子靶向诊疗北京市重点实验室,北京 100730

贾娟娟和党永红对本文有同等贡献

通信作者:霍力, Email: huoli@pumch.cn;施亚琴, Email: shiyq@nifdc.org.cn

**【摘要】** 目的 探讨 $^{68}\text{Ga}$ -1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)-*D*-苯丙氨酸 1-酪氨酸 3-苏氨酸 8-奥曲肽(TATE)注射液放化纯与体内显像效果的关系。方法 采用高效液相色谱(HPLC)和薄层色谱(TLC)法测定 $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE、 $^{68}\text{Ga}^{3+}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 胶体及 $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-*D*-苯丙氨酸 1-酪氨酸 3-苏氨酸 8-去苏氨酸-奥曲肽(heptapeptide),考察标记前体 DOTATATE 的纯度对标记产物放化纯的影响。建立大鼠胰腺外分泌腺肿瘤细胞 AR42J 荷瘤裸鼠模型,行 microPET 显像,考察不同放化纯 $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液的摄取情况,计算肿瘤组织的靶/非靶(T/NT)比值。采用单因素方差分析和 Pearson 相关分析数据。结果  $^{68}\text{Ga}^{3+}$ 和 $^{68}\text{Ga}$ 胶体的含量与标记前体 DOTATATE 的纯度无明显相关性( $r$ 值:0.385、0.497,  $P$ 值:0.306、0.137), $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-heptapeptide 的含量与标记前体中 DOTA-heptapeptide 的纯度呈正相关( $r = 0.957, P < 0.001$ )。纯度分别为 90.9%、91.6%、99.2%的 DOTATATE,其标记产物 $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液的放化纯分别为(87.0±2.3)%、(86.8±0.8)%、(94.0±3.1)%。MicroPET 显像示,将放化纯为 95.7%、85.8%、84.5%和 79.9%的 $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液分别注入荷瘤裸鼠体内,肿瘤组织的摄取与放化纯呈正相关( $r = 0.828, P < 0.001$ ),其 T/NT 比值分别为 21.25±8.84、8.50±1.51、11.38±1.65 和 6.01±0.99 ( $F = 11.48, P = 0.001$ )。结论  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液的放化纯受标记前体纯度及制备工艺的影响,其放化纯与体内显像效果有一定关系。

**【关键词】** 有机金属化合物;镓放射性同位素;质量控制;色谱法,高压液相;色谱法,薄层;正电子发射断层显像术;胰腺肿瘤;小鼠,裸

**基金项目:**国家科技重大专项(2017zx09101001-007)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20211227-00452

## Study on the relation of the radiochemical purity and *in vivo* imaging effect of $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE injection

Jia Juanjuan<sup>1</sup>, Dang Yonghong<sup>2</sup>, Sun Deyang<sup>1</sup>, Sun Jiabei<sup>1</sup>, Cheng Ming<sup>1</sup>, Huo Li<sup>2</sup>, Shi Yaqin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Chemical Drugs, National Medical Products Administration; Division of Antitumor & Radioactive Drug, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China; <sup>2</sup>Department of Nuclear Medicine, Peking Union Medical College Hospital, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences; Beijing Key Laboratory of Molecular Targeted Diagnosis and Therapy in Nuclear Medicine, Beijing 100730, China

Jia Juanjuan and Dang Yonghong are contributed equally to the article

Corresponding authors: Huo Li, Email: huoli@pumch.cn; Shi Yaqin, Email: shiyq@nifdc.org.cn

**【Abstract】 Objective** To explore the relation of the radiochemical purity and *in vivo* imaging effect of  $^{68}\text{Ga}$ -1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (DOTA)-*D*-phe1-Tyr3-Thr8-octreotide (TATE) injection. **Methods** High performance liquid chromatography (HPLC) and thin-layer chromatography (TLC) methods were established to determine  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE,  $^{68}\text{Ga}^{3+}$ ,  $^{68}\text{Ga}$  in colloidal form and  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-*D*-Phe1-Tyr3-Thr8-dethreonine-octreotide (heptapeptide) and to study the influence of precursor purity on radiochemical purity of labelled products. The uptake of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE injection with different radiochemical purities was investigated in nude mice bearing AR42J cells by microPET imaging and the tumor target/non-target (T/NT) value was calculated. One-way analysis of variance and Pearson correlation analysis were used to analyze the data. **Results** The contents of  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  and  $^{68}\text{Ga}$  in colloidal form were not related with precursor purity ( $r$  values: 0.385, 0.497,  $P$  values: 0.306, 0.137), while the content of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-heptapeptide was positively related with the purity of DOTA-heptapeptide ( $r = 0.957, P < 0.001$ ).

The radiochemical purities of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE injection were  $(87.0\pm 2.3)\%$ ,  $(86.8\pm 0.8)\%$  and  $(94.0\pm 3.1)\%$  when the DOTATATE purities were 90.9%, 91.6% and 99.2%, respectively. The results of micro-PET imaging showed that the tumor uptake was positively related with the radiochemical purity of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE injection ( $r=0.828$ ,  $P<0.001$ ), and the T/NT values of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE injection with radiochemical purities of 95.7%, 85.8%, 84.5% and 79.9% were  $21.25\pm 8.84$ ,  $8.50\pm 1.51$ ,  $11.38\pm 1.65$  and  $6.01\pm 0.99$ , respectively ( $F=11.48$ ,  $P=0.001$ ). **Conclusion** The radiochemical purity of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE injection is impacted by the purity of labelled precursor and manufacturing processes and is related with the imaging effect *in vivo*.

**【Key words】** Organometallic compounds; Gallium radioisotopes; Quality control; Chromatography, high pressure liquid; Chromatography, thin layer; Positron-emission tomography; Pancreatic neoplasms; Mice, nude

**Fund program:** National Major New Drug Development Program (2017zx09101001-007)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20211227-00452

奥曲肽是人工合成的生长抑素的八肽衍生物,其药理作用与生长抑素相似。1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid, DOTA)-*D*-苯丙氨酸 1-酪氨酸 3-苏氨酸 8-奥曲肽(*D*-Phe1-Tyr3-Thr8-octreotide, TATE)是具有螯合作用 linker 结构(DOTA)的环状八肽,对生长抑素受体(somatostatin-receptor, SSTR)2 亚型具有较高的亲和力<sup>[1]</sup>,通过 DOTA 可与放射性核素络合。由于 SSTR2 在多种肿瘤细胞中过表达,放射性核素标记的 DOTATATE 可用于肿瘤的诊断或治疗。2016 年,美国食品与药品监督管理局批准  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液用于 SSTR 阳性神经内分泌肿瘤患者的定位诊断<sup>[2]</sup>;国内外多家机构也对  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液开展了制备和临床相关研究<sup>[3-9]</sup>,结果均表明  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液对 SSTR2 表达的肿瘤有较高的亲和性。这些研究主要集中在制备和临床应用方面,对  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液的质量与显像效果关系的研究鲜有报道。本文通过建立体外放化纯分析方法,对  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液的放化纯及其对显像效果的影响进行了研究,以为放射性药品质量标准的制定提供依据。

## 材料与方法

1. 主要试剂与仪器。DOTATATE、DOTA-*D*-苯丙氨酸 1-酪氨酸 3-苏氨酸 8-去苏氨酸-奥曲肽(*D*-Phe1-Tyr3-Thr8-dethreonine-octreotide, heptapeptide)由杭州中肽生物科技有限公司提供;99.9%盐酸(北京化学试剂研究所有限责任公司);色谱纯三氟乙酸(trifluoroacetic acid, TFA)、乙腈和甲醇(美国 Fisher Scientific 公司);分析纯枸橼酸、枸橼酸钠、无水乙醇和乙酸铵(国药集团化学试剂有限公司);分析纯无水乙酸钠(北京百灵威科技有限公司);超纯水(中国食品药品检定研究院实验室自制)。镅-镓

发生器(德国 Eckert & Ziegler Eurotope GmbH 公司);瞬时硅胶薄层色谱(instant thin-layer chromatography-silica gel, ITLC-SG)纸(美国 Agilent 公司);Sep-Pak Light C18 柱(美国 Waters 公司);SB-C18 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 3.5  $\mu\text{m}$ ;美国 Agilent 公司);0.22  $\mu\text{m}$  无菌滤器(美国 Merck Millipore 公司);1260 型高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)仪(美国 Agilent 公司);Lablogic Flow-RAW HPLC 放射性检测器(英国 Lablogic 公司);miniscan 放射性薄层色谱(thin-layer chromatography, TLC)扫描仪(美国 BioScan 公司);CRC-25R 放射性活度计(美国 Capintec 公司);micro-PET 显像仪(德国 Siemens 公司)。

2. 细胞和实验动物。大鼠胰腺外分泌腺肿瘤细胞 AR42J 购于美国 ATCC 公司,AR42J 荷瘤裸鼠委托北京永欣康泰科技发展有限公司接种。BALB/c 裸鼠体质量 18~22g,4~5 周龄,数量 28 只(雌雄各半),实验动物许可证号:SCXK(京)2016-0006。在屏障环境内饲养,于裸鼠右上肢皮下接种  $5\times 10^6$  个细胞/只,分别于接种 5 d(肿瘤肉眼几乎不可见)和接种 2 周(肿瘤最大径约 1 cm)进行实验。本研究动物实验符合北京市实验动物管理条例的相关要求。

3.  $^{68}\text{Ga}$  标记。取 0.1 mol/L 高纯盐酸溶液淋洗镅-镓发生器,分 5 管收集淋洗液,每管 1 ml。测定淋洗液活度,取 1 ml 活度高的淋洗液,加入 1.25 mol/L 乙酸钠溶液 94  $\mu\text{l}$ ,调节 pH 值约为 4.0;向该溶液中加入 50  $\mu\text{l}$  1 mg/ml 的 DOTATATE 溶液,混匀,100  $^{\circ}\text{C}$  加热反应 10 min。采用同样的方法标记 DOTA-heptapeptide。

4. 纯化方法。反应液冷却后,用 5 ml 注射用水稀释后通过 Sep-Pak Light C18 柱,吹干,用 10 ml 注射用水清洗 Sep-Pak Light C18 柱,吹干;再依次用 0.5 ml 体积分数 80% 乙醇溶液、4.5 ml 注射用水淋洗,淋洗液经 0.22  $\mu\text{m}$  无菌滤膜过滤后收集至无菌真空瓶,得到  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液。

5. 放化纯的测定。采用 HPLC 和 TLC 法联合测定,按(100-J)×T 计算<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 注射液的放化纯,其中 J 为 TLC 法中测得的<sup>68</sup>Ga 胶体的百分含量(原点的放射性净计数占放射性总净计数的百分比),T 为 HPLC 中<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 的百分含量。

HPLC 条件:以 1 mg/ml 的 DOTATATE 水溶液为对照,用 SB-C18 色谱柱,含体积分数 0.1% TFA 水溶液为流动相 A,含体积分数 0.1% TFA 乙腈为流动相 B,梯度洗脱(0~20 min,80% A→70% A;20.01~21 min,70% A→80% A;21.01~25 min,80% A),紫外检测器的检测波长为 220 nm,串联放射性检测器,进样体积 25 μl。

TLC 条件:采用 2 种方法测定。方法 1:参照欧洲药典 10.0<sup>[10]</sup>,取样品溶液 5 μl 点于 ITLC-SG 纸上,立即置于甲醇:乙酸铵溶液(77 g/L)=50:50(V/V)中展开,晾干,用放射性 TLC 扫描仪测量放射性分布,计算比移值( $R_f$ )。方法 2:展开剂为 0.1 mol/L 枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液(pH=5.0):甲醇:乙酸铵溶液(77 g/L)=6:1:1(V/V/V),其他操作与方法 1 相同。

6. 低放化纯<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 溶液的制备。在<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 样品中按比例加入<sup>68</sup>GaCl<sub>3</sub> 溶液,使<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 的放化纯约为 80%,混匀,按上述方法测定放化纯。

7. <sup>68</sup>Ga 胶体的制备<sup>[10]</sup>。取 1 ml <sup>68</sup>GaCl<sub>3</sub> 溶液,加入 1.5 ml 0.1 mol/L NaOH 溶液,混匀,30 min 内使用。

8. MicroPET 显像。荷瘤裸鼠接种 5 d 和 2 周时,按随机数字表法各分成 4 组,其中接种 5 d 的每组 3 只,接种 2 周的每组 4 只。经尾静脉注射不同放化纯的<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 注射液及配制的低放化纯样品,每只约 3.7 MBq(100 μl)。注射后 40 min 进行 microPET 显像,计算肿瘤组织的靶/非靶(target/non-target, T/NT)比值。

9. 统计学处理。采用 IBM SPSS 26.0 软件进行统计学分析,符合正态分布的定量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,相关性分析采用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$  为差异或相关性有统计学意义。

## 结 果

1. 放化纯的测定。将可能含有的放射化学杂质<sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup>、<sup>68</sup>Ga 胶体和<sup>68</sup>Ga-DOTA-heptapeptide 添加到<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 注射液,HPLC 分析显示,<sup>68</sup>Ga-DOTATATE、<sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup>和<sup>68</sup>Ga-DOTA-heptapeptide 可有效分

离,但不能有效分离<sup>68</sup>Ga 胶体(图 1),推测可能是<sup>68</sup>Ga 胶体在液相色谱所用的酸性流动相中转化为<sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup>。

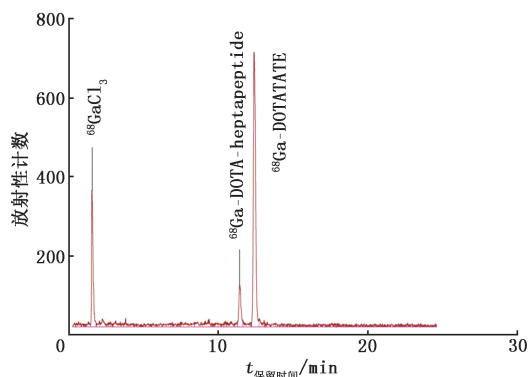


图 1 高效液相色谱(HPLC)法测定<sup>68</sup>Ga-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)-D-苯丙氨酸 1-酪氨酸 3-苏氨酸 8-奥曲肽(TATE)、<sup>68</sup>Ga-DOTA-D-苯丙氨酸 1-酪氨酸 3-苏氨酸 8-去苏氨酸-奥曲肽(heptapeptide)、<sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup>和<sup>68</sup>Ga 胶体混合溶液的色谱图

采用 TLC 法对<sup>68</sup>Ga 胶体进行分析,结果显示,方法 1 中<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 的  $R_f$  值为 0.8~1.0,<sup>68</sup>Ga 胶体和<sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup>的  $R_f$  值均为 0.0~0.1,<sup>68</sup>Ga 胶体和<sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup>未能有效分离;方法 2 中<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 和<sup>68</sup>Ga-DOTA-heptapeptide 的  $R_f$  值为 0.6~0.8,<sup>68</sup>Ga 胶体的  $R_f$  值为 0.0~0.1,<sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup>的  $R_f$  值为 0.9~1.0,可有效分离<sup>68</sup>Ga 胶体和主成分及其他放射化学杂质(图 2)。

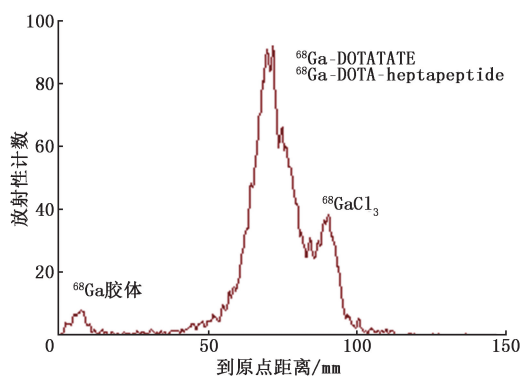


图 2 薄层色谱(TLC)法测定<sup>68</sup>Ga-DOTATATE、<sup>68</sup>Ga-DOTA-heptapeptide、<sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup>和<sup>68</sup>Ga 胶体混合溶液的色谱图

对不同纯度(90.9%、91.6%、99.2%)的 DOTATATE 进行<sup>68</sup>Ga 标记,其标记产物的放化纯结果见表 1。标记产物中主要存在<sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup>、<sup>68</sup>Ga 胶体和<sup>68</sup>Ga-DOTA-heptapeptide 3 种放射化学杂质,其中<sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup>和<sup>68</sup>Ga 胶体的含量与标记前体 DOTATATE 纯度无明显相关性( $r$  值:0.385、0.497; $P$  值:0.306、0.137),<sup>68</sup>Ga-DOTA-heptapeptide 的含量与前体中 DOTA-heptapeptide 的纯度呈正相关( $r = 0.957$ , $P <$

表 1 前体纯度及标记产物组分含量或放化纯测定结果

前体纯度		标记物 编号	标记产物各组分含量								标记产物放化纯	
A	B		C	$\bar{x} \pm s$	D	$\bar{x} \pm s$	E	$\bar{x} \pm s$	F	$\bar{x} \pm s$	G	$\bar{x} \pm s$
90.9%	7.4%	1	90.1%		7.8%		2.0%		1.5%		88.8%	
		2	85.5% (87.9±2.4)%	8.6%	(8.3±0.4)%	1.8%	(1.8±0.2)%	1.1%	(1.0±0.5)%	84.5%	(87.0±2.3)%	
		3	88.1%	8.4%		1.6%		0.4%		87.8%		
91.6%	5.1%	4	88.6%		3.3%		4.9%		1.5%		87.3%	
		5	87.7% (87.9±0.6)%	3.8%	(3.5±0.2)%	2.1%	(3.3±1.4)%	2.1%	(1.3±1.0)%	85.8%	(86.8±0.8)%	
		6	87.4%	3.4%		2.8%		0.2%		87.2%		
99.2%	0.2%	7	92.4%		-		5.1%		2.1%		90.5%	
		8	97.7% (95.6±2.8)%	-	-	2.3%	(3.4±1.4)%	1.8%	(1.8±0.3)%	95.9%	(94.0±3.1)%	
		9	97.1%		-		2.9%		1.4%		95.7%	

注: -表示未检测到; A 为 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸 (DOTA)-D-苯丙氨酸 1-酪氨酸 3-苏氨酸 8-奥曲肽 (TATE), B 为 DOTA-D-苯丙氨酸 1-酪氨酸 3-苏氨酸 8-去苏氨酸-奥曲肽 (hepatpeptide), C 为  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE, D 为  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-heptapeptide, E 为  $^{68}\text{Ga}^{3+}$ , F 为  $^{68}\text{Ga}$  胶体, G 为  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液的放化纯按照  $(100-J) \times T$  计算, 其中 J 为  $^{68}\text{Ga}$  胶体的百分含量, T 为  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 的百分含量

0.001)。测定结果显示,只有当前体 DOTATATE 的纯度大于 99% 时,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 的放化纯才可达到 90% 以上(表 1)。

2. MicroPET 显像(图 3)。在肿瘤较早期(接种后 5 d),将放化纯为 95.9%、87.8%、87.2% 和 79.0% 的  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液注入荷瘤裸鼠体内,其 T/NT 比值分别为  $2.52 \pm 0.13$ 、 $1.98 \pm 0.22$ 、 $1.39 \pm 0.26$  和  $1.59 \pm 0.09$ ,组间差异有统计学意义( $F = 15.389$ ,  $P = 0.002$ );肿瘤组织的摄取与放化纯呈正相关( $r = 0.672$ ,  $P = 0.023$ );放化纯为 95.9% 的  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液显像效果明显好于其他放化纯注射液。对于中晚期肿瘤(接种后 2 周),将放化纯为 95.7%、85.8%、84.5% 和 79.9% 的  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液注入荷瘤裸鼠体内,其 T/NT 比值分别为  $21.25 \pm 8.84$ 、 $8.50 \pm 1.51$ 、 $11.38 \pm 1.65$  和  $6.01 \pm 0.99$ ,组间差异也有统计学意义( $F = 11.48$ ,  $P = 0.001$ ),肿瘤组织的摄取与放化纯也呈正相关( $r = 0.828$ ,  $P < 0.001$ )。

## 讨 论

近年来,我国放射性药物蓬勃发展,在疾病的诊断和治疗中发挥着不可替代的作用。 $^{68}\text{Ga}$  标记的放射性药物注射剂作为对肿瘤进行诊断的 PET 显像药物,具有半衰期适中、可由锗-镓发生器制备、易于用试剂盒或自动化方式进行标记等优点,是放射性药物研究的热点。 $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液在临床研究中 SSTR2 表达的肿瘤表现出高亲和力,但是作为药物应用于临床,其质量标准及质量控制的研究鲜有报道。为此,本文结合制备工艺过程,对影响显像效果和安全性放化纯进行了研究,并且通过考察放化纯与显像效果的关系,为放化纯的质量控制

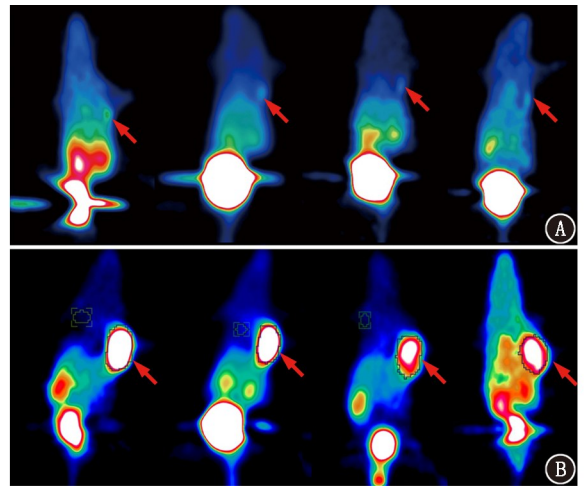


图 3 大鼠胰腺外分泌腺肿瘤细胞 AR42J 荷瘤裸鼠在肿瘤早期(接种后 5 d; A)和中晚期(接种后 2 周; B)注射不同放化纯  $^{68}\text{Ga}$ -1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸-D-苯丙氨酸 1-酪氨酸 3-苏氨酸 8-奥曲肽 (DOTATATE) 注射液后 40 min 的 microPET 显像图(箭头示肿瘤)。A 图从左到右  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液放化纯分别为 95.9%、87.8%、87.2%、79.0%, B 图从左到右  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液放化纯分别为 95.7%、85.8%、84.5%、79.9%

限度以及质量标准的建立提供了数据支撑。

对标记前体 DOTATATE 有关物质的研究显示,主要存在 3 种杂质,分别为 DOTATATE 的同分异构体、DOTA-heptapeptide 和 Tyr3-奥曲肽,其中 DOTA-heptapeptide 可与  $^{68}\text{Ga}$  结合形成  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-heptapeptide,成为放射性杂质,且该杂质在肿瘤组织有一定摄取,因此  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-heptapeptide 的存在与  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  和  $^{68}\text{Ga}$  胶体一样会影响显像效果。此外,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-heptapeptide 的结构与  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 相近,不像  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  和  $^{68}\text{Ga}$  胶体在标记后的纯化过程中易于除去,因此在  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE 注射液质量控制时,

必须控制好前体纯度,特别是 DOTA-heptapeptide 的含量。本研究中,纯度大于 99% 的前体 DOTATATE 制备的<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 注射液的放化纯能稳定达到 90% 以上,而纯度约为 90% 的前体,其标记产物的放化纯均低于 90%。本研究结果显示,<sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup> 和<sup>68</sup>Ga 胶体含量与标记前体纯度无明显相关性,为制备工艺放射化学杂质。理论上两者仅与加入<sup>68</sup>Ga 的量和前体中能与螯合的组分总量以及标记条件是否稳定有关。本研究中,各次加入<sup>68</sup>Ga 的放射性活度基本一致,虽然前体纯度不同,但 DOTATATE 及 DOTA-heptapeptide 的总量基本相同,因此检测到的<sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup> 和<sup>68</sup>Ga 胶体的量比较相近。

本研究同时对<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 注射液进行了显像效果的研究,考察不同放化纯对显像效果的影响。本研究采用 AR42J 荷瘤裸鼠模型,其为<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 动物实验研究中应用较多的肿瘤模型<sup>[3,11-12]</sup>,在肿瘤初期(肉眼不可见)和肿瘤中晚期(最大径约 1 cm)对不同放化纯<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 注射液显像的 T/NT 比值进行比较,虽然注射液有效期短,2 个时期未能使用同一批注射液,但无论在肿瘤早期还是中晚期,肿瘤组织均对放化纯越高的<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 摄取越好,尤其是对于早期肿瘤;当放化纯低于 90% 时,其 T/NT 比值仅略高于本底,不易判断。因此,笔者认为<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 注射液的放化纯至少应控制在 90% 以上。这一研究结果与欧洲药典中其他同类型品种规定的放化纯限度 91% 基本一致<sup>[10]</sup>。

综上,本研究建立了<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 注射液放化纯的检测方法,通过研究前体 DOTATATE 纯度对<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 注射液放化纯的影响及注射液放化纯与显像效果的关系,为<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 注射液制备工艺过程中对前体纯度、放化纯的质量控制要求提供了数据支持,为放射性药品的质量评价提供了思路。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明** 贾娟娟、党永红:研究实施、论文撰写;孙得洋、孙葭北、程茗:研究实施;霍力、施亚琴:研究指导、论文修改、经费支持

## 参 考 文 献

[1] FDA. NetSpot US Label [EB/OL]. (2016-6-1) [2021-12-06]. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2016/208547s000lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/208547s000lbl.pdf).

- [2] FDA. NetSpot US Approval Letter [EB/OL]. (2016-6-1) [2021-12-06]. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/applletter/2016/208547Orig1s000ltr.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/applletter/2016/208547Orig1s000ltr.pdf).
- [3] 张静静,朱朝晖,党永红,等.<sup>68</sup>Ga-DOTATATE 的合成及动物实验研究[J].中华核医学与分子影像杂志,2014,34(6):490-494. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.06.016.
- Zhang JJ, Zhu ZH, Dang YH, et al. Synthesis and *in vivo* evaluation of <sup>68</sup>Ga-DOTATATE in mice [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2014, 34(6): 490-494. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.06.016.
- [4] 朱华,于江媛,李因,等.<sup>68</sup>Ga-DOTA-TATE 的制备及在神经内分泌肿瘤显像中的应用[J].中华核医学与分子影像杂志,2015,35(6):487-491. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2015.06.016.
- Zhu H, Yu JY, Li N, et al. Preparation of <sup>68</sup>Ga-DOTA-TATE and its clinical trial in neuroendocrine tumor [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2015, 35(6): 487-491. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2015.06.016.
- [5] Mukherjee A, Pandey U, Chakravarty R, et al. Development of single vial kits for preparation of <sup>68</sup>Ga-labelled peptides for PET imaging of neuroendocrine tumours [J]. Mol Imaging Biol, 2014, 16(4): 550-557. DOI:10.1007/s11307-014-0719-2.
- [6] Tworowska I, Ranganathan D, Thakur S, et al. Radiosynthesis of clinical doses of <sup>68</sup>Ga-DOTATATE (GalioMedix™) and validation of organic-matrix-based <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga generators [J]. Nucl Med Biol, 2016, 43(1): 19-26. DOI:10.1016/j.nucmedbio.2015.08.004
- [7] Prince D, Rossouw D, Rubow S. Optimization of a labeling and kit preparation method for Ga-68 labeled DOTATATE, using cation exchange resin purified Ga-68 eluates obtained from a tin dioxide <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga generator [J]. Mol Imaging Biol, 2018, 20(6): 1008-1014. DOI: 10.1007/s11307-018-1195-x.
- [8] Aalbersberg EA, Geluk-Jonker MM, Young-Mylvaganan T, et al. A practical guide for the production and PET/CT imaging of <sup>68</sup>Ga-DOTATATE for neuroendocrine tumors in daily clinical practice [J]. J Vis Exp, 2019(146). DOI:10.3791/59358.
- [9] Fang P, Jacobson MS, Hung JC. Influential factors in the preparation of <sup>68</sup>Ga-DOTATATE [J]. J Nucl Med Technol, 2020, 48(3): 263-268. DOI:10.2967/jnmt.119.241224.
- [10] European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM). European pharmacopoeia [M]. 10th ed. Strasbourg: Council of Europe, 2019; 1208-1210.
- [11] Froidevaux S, Heppeler A, Eberle AN, et al. Preclinical comparison in AR4-2J tumor-bearing mice of four radiolabeled 1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecane-1, 4, 7, 10-tetraacetic acid-somatostatin analogs for tumor diagnosis and internal radiotherapy [J]. Endocrinology, 2000, 141(9): 3304-3312. DOI: 10.1210/endo.141.9.7683.
- [12] Niedermoser S, Chin J, Wängler C, et al. *In vivo* evaluation of <sup>18</sup>F-SiFAlin-modified TATE: a potential challenge for <sup>68</sup>Ga-DOTATATE, the clinical gold standard for somatostatin receptor imaging with PET [J]. J Nucl Med, 2015, 56(7): 1100-1105. DOI:10.2967/jnumed.114.149583.

(收稿日期:2021-12-27)