

**NGHIÊN CỨU ĐIỀU CHẾ ĐỒNG VỊ PHÓNG XẠ ^{177}Lu
TRÊN LÒ PHẢN ỨNG HẠT NHÂN ĐÀ LẠT
VÀ KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG ĐỒNG VỊ NÀY TRONG Y TẾ
PHẦN 2. NGHIÊN CỨU SỰ PHÂN BỐ VÀ ĐÀO THẢI CỦA DƯỢC CHẤT
 ^{177}Lu -EDTMP TRÊN ĐỘNG VẬT (CHUỘT BẠCH VÀ THỎ)**

Đến tòa soạn 27 – 2 – 2015

Nguyễn Ngọc Tuấn, Dương Văn Đông, Phạm Thành Minh, Nguyễn Thị Hằng

SUMMARY

**STUDY ON PRODUCTION OF ^{177}Lu AT DALAT NUCLEAR RESEARCH RECTOR
PART 2: STUDY ON DISTRIBUTION AND ELIMINATION OF ^{177}Lu -EDTMP
PHARMACEUTICAL IN ANIMALS (WHITE MOUSE AND RABBIT)**

Ethylene-Diamine-Tetramethylene-Phosphonic acid [EDTMP] labeled with ^{177}Lu forming ^{177}Lu -EDTMP has been prepared in Nuclear Research Institute. Study on distribution and elimination of ^{177}Lu -EDTMP pharmaceutical in animal (white mouse and rabbit) carried out in the Center for Research and Preparation of Radioisotopes, Nuclear Research Institute and Hospital 175 of army in Ho Chi Minh city. The received results showed that ^{177}Lu -EDTMP concentrated in bone (>80%) and eliminated from blood after 5,4 days.

1. MỞ ĐẦU

Ethylene-Diamine-Tetramethylene-Phosphonic acid [EDTMP] là một hợp chất hóa học đã được nhiều nơi trên thế giới sử dụng để đánh dấu với đồng vị phóng như ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{177}Lu dùng vào mục đích điều trị các bệnh tổn thương mô xương; trong đó có cả bệnh ung thư di căn xương [1, 2].

Trước khi các dược chất trên được sử dụng lâm sàng (chẩn đoán và điều trị trên bệnh nhân), cần phải có những thử nghiệm đánh giá về chất lượng thuốc cũng như sự phân

bố và khả năng đào thải trên động vật thí nghiệm.

Trong công trình này, chúng tôi trình bày kết quả kiểm tra sự phân bố và đào thải của dược chất phóng xạ ^{177}Lu -EDTMP (sản xuất tại Viện Nghiên cứu hạt nhân Đà Lạt) trên động vật thí nghiệm và định hướng cho việc ứng dụng lâm sàng.

2. THIẾT BỊ, DỤNG CỤ VÀ HÓA CHẤT
2.1. Thiết bị

- Máy đo hoạt độ phóng xạ liều cao Capintec của Mỹ, dải đo từ 0,001-80.000mCi

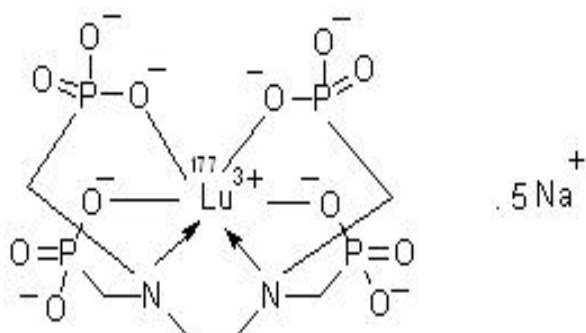
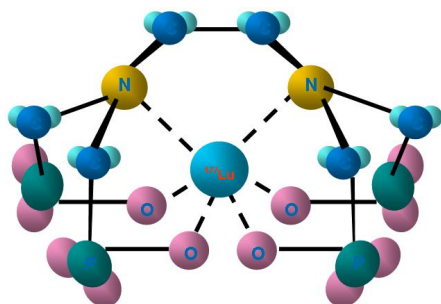
- Máy đo hoạt độ phóng xạ, CR- 127, Capintec và ISOMED 2000, Mỹ
- Hệ phổ kế gamma đa kênh của hãng Ortec, Mỹ

2.2. Dụng cụ:

- Các loại cốc thủy tinh chịu nhiệt: 50mL, 100 mL, 250mL; bình định mức 50mL, 100mL; pipete, micropipet đều của cộng hòa Liên bang Đức.

2.3. Hóa chất:

- Dung dịch $^{177}\text{LuCl}_3$ được điều chế trên lò phản ứng hạt nhân Đà Lạt, có hoạt độ phóng xạ riêng là 8,4mCi/mL



Hình 1: Công thức tạo phức của ^{177}Lu với EDTMP [3,4]

Trong phân tử EDTMP: Nguyên tử N trong nhóm amine còn một cặp điện tử tự do nên có khả năng cho điện tử, do đó khi tương tác với ion kim loại N sẽ tạo liên kết phối trí. Còn nhóm $-\text{PO}_3\text{H}_2$ là acid hai nấc nhưng chỉ có nấc thứ nhất tương đối mạnh nên H khá linh động và dễ dàng tách ra để tạo liên kết với các ion kim loại. Ion ^{177}Lu có các orbital trống có khả năng nhận các cặp điện tử tự do của phối tử nên phức tạo bởi EDTMP với ^{177}Lu khá dễ dàng.

3.2. Quy trình đánh dấu của hợp chất ^{177}Lu -EDTMP

Quy trình đánh dấu được thực hiện trong Box chuyên dụng có che chắn phóng xạ và có thông gió (Laminer) của Mỹ.

- EDTMP có độ sạch p.a do Organic Process Research Group của hãng Dow chemical Co., Mỹ sản xuất.
- Axit HCl đặc, 37% của hãng Merck, cộng hòa Liên bang Đức
- H_2O_2 PA. đặc, 30% của hãng Merck, cộng hòa Liên bang Đức
- Các hóa chất và dung môi khác đều có độ sạch tinh khiết phân tích (p.a.)

3. THỰC NGHIỆM

3.1. Phản ứng tạo phức của ^{177}Lu với EDTMP

Tất cả các dung dịch đã chuẩn bị và dụng cụ được đưa vào box điều chế. Dùng pipet tự động lấy một lượng dung dịch phóng xạ $^{177}\text{LuCl}_3$ có nồng độ 0,06mmol/ml cho vào dung dịch EDTMP. Sau đó, dùng dung dịch HCl 0.1M, NaOH 0.1M để đưa giá trị pH của hỗn hợp dung dịch đánh dấu về pH = 8. Điều chỉnh thể tích của hỗn hợp dung dịch đánh dấu bằng nước muối sinh lý đến 1ml. Lắc và để yên 30 phút ở nhiệt độ phòng.

Sau khi đánh dấu để tạo hợp chất ^{177}Lu -EDTMP, chúng tôi tiến hành kiểm tra hiệu suất đánh dấu bằng sắc ký giấy.

3.3. Khảo sát sự phân bố ^{177}Lu -EDTMP trên chuột và thỏ

- Pha loãng thuốc phóng xạ $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ bằng NaCl 0,9% đến nồng độ $100\mu\text{Ci}/100\mu\text{l}$ (1 mCi/ml) để tiêm vào chuột.

- Tiêm vào tĩnh mạch đuôi mỗi con chuột $100\mu\text{l}$ dịch chất ($100\mu\text{Ci}$); ghi lại thời gian tiêm theo nhóm (mỗi nhóm 3-5 con).

- Thời gian lấy mẫu sau khi tiêm của các nhóm chuột là: 2 giờ, 4 giờ, 24 giờ, 48 giờ và 1 tuần (5 nhóm chuột).

- Khi các khoảng thời gian, mổ chuột lấy các cơ quan nội tạng cho vào ống nghiệm: gan, lách, thận, cơ, xương, phổi, tim, máu, ruột, dạ dày, bóng đái, xác chuột, đuôi. Tiến hành cân, xác định khối lượng từng bộ phận; sau đó đo hoạt độ phóng xạ.

- Lấy thể tích $100\mu\text{l}$ (đúng bằng thể tích tiêm) dịch chất $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ cho vào chai NaCl 0,9% tạo thành 25ml; sau đó cho vào 3 ống, mỗi ống 1ml dung dịch trên, đo hoạt độ phóng xạ trong từng ống (làm chuẩn).

Máu cũng được cân và đo đếm nhưng tổng hoạt độ trong máu được tính toán bằng 7% trọng lượng cơ thể. Đối với cơ tính bằng

40% trọng lượng cơ thể. Đối với xương tính bằng 10% trọng lượng cơ thể (theo tài liệu IAEA Tecdoc 649) [5]. Tổng hoạt độ tiêm vào cơ thể chuột được tính bằng hoạt độ trong xyranh trừ đi hoạt độ tại vị trí tiêm của đuôi.

4. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

4.1. Phân bố $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ trên chuột và thỏ

Dược chất phóng xạ $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ được điều chế tại Trung tâm Nghiên cứu và Điều chế đồng vị phóng xạ, Viện Nghiên cứu hạt nhân đã được Viện Kiểm nghiệm dược, Bộ Y tế và Trung tâm phân tích, Viện Nghiên cứu hạt nhân kiểm định và đánh giá chất lượng dựa trên các tiêu chí sau:

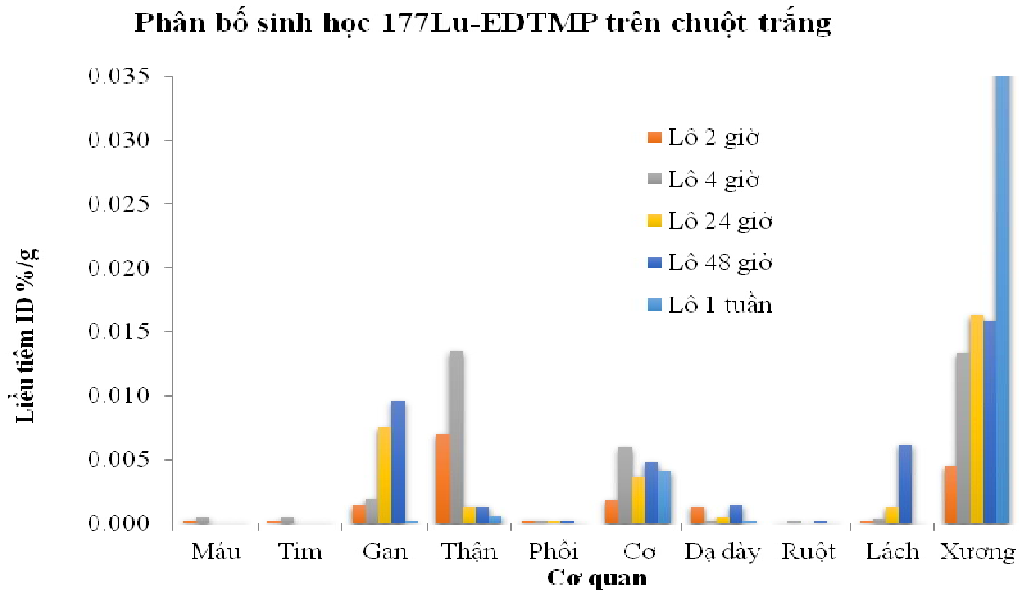
Độ sạch hóa phóng xạ: 98,5%; độ sạch hạt nhân: 99,9%, hiệu suất tạo phức $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ > 85%, độ vô khuẩn: đạt, chỉ nhiệt độ: đạt, pH dung dịch: 8.

Từ kết quả đánh giá trên, chúng tôi tiến hành thí nghiệm, khảo sát sự phân bố của $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ trên chuột và thỏ. Kết quả được trình bày ở bảng 1, hình 1 và hình 2.

Bảng 1. Kết quả phân tích đánh giá sự phân bố $^{177}\text{Lu-EDTMP}$ ở chuột

% hoạt độ tiêm vào (Hoạt độ tiêm/cơ quan), n=3					
Các bộ phận	Lô 2h	Lô 4h	Lô 24h	Lô 48h	Lô 1 tuần
Máu	$0,23 \pm 0,03$	$0,41 \pm 0,32$	$0,10 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,10$	$0,01 \pm 0,007$
Tim	$0,11 \pm 0,04$	$0,44 \pm 0,60$	$0,06 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,02$
Gan	$1,38 \pm 1,80$	$1,94 \pm 1,66$	$7,52 \pm 4,34$	$9,55 \pm 4,72$	$0,12 \pm 0,08$
Thận	$6,98 \pm 3,13$	$13,46 \pm 12,53$	$1,33 \pm 0,64$	$1,36 \pm 0,67$	$0,61 \pm 0,21$
Phổi	$0,19 \pm 0,12$	$0,20 \pm 0,10$	$0,14 \pm 0,12$	$0,19 \pm 0,12$	$0,06 \pm 0,01$
Cơ	$1,86 \pm 1,26$	$3,98 \pm 2,75$	$3,70 \pm 3,05$	$4,76 \pm 2,80$	$4,14 \pm 3,36$
Dạ dày	$1,10 \pm 0,92$	$1,19 \pm 0,12$	$1,42 \pm 0,58$	$1,42 \pm 1,12$	$0,15 \pm 0,08$
Ruột	$0,07 \pm 0,07$	$0,12 \pm 0,15$	$0,11 \pm 0,09$	$0,18 \pm 0,10$	$0,04 \pm 0,03$

% hoạt độ tiêm vào (Hoạt độ tiêm/cơ quan), n=3					
Các bộ phận	Lô 2h	Lô 4h	Lô 24h	Lô 48h	Lô 1 tuần
Lách	$0,13 \pm 0,09$	$0,34 \pm 0,27$	$1,24 \pm 0,85$	$6,18 \pm 5,31$	$0,04 \pm 0,02$
Xương	$4,47 \pm 1,78$	$13,35 \pm 6,72$	$16,29 \pm 5,37$	$15,88 \pm 10,35$	$36,74 \pm 18,35$



Hình 1. Sự phân bố của ^{177}Lu -EDTMP trên chuột

Từ kết quả nhận được ở bảng 1 và hình 1 cho thấy, ^{177}Lu -EDTMP tập trung nhiều nhất ở xương. Sau 1 tuần kể từ khi tiêm, chỉ còn quan sát thấy ^{177}Lu -EDTMP trong xương và rất ít ở lách, thận, gan và cơ. Do các quá trình sinh hóa của các cơ quan trong cơ thể mà sự tập trung ^{177}Lu -EDTMP trong các cơ quan này cũng khác nhau; tập trung nhiều ở gan sau 48 giờ, ở thận chỉ sau 4 giờ, ở cơ sau 48 giờ, ở lách sau 48 giờ và

ở xương sau 1 tuần. Tuy nhiên, sau 1 tuần ^{177}Lu -EDTMP chỉ còn tập trung ở xương, ở những cơ quan còn lại ^{177}Lu -EDTMP đo được có hoạt độ rất nhỏ hay nói cách khác nó đã bị đào thải ra khỏi cơ thể.

Kết quả khảo sát sự phân bố của ^{177}Lu -EDTMP trên thỏ bằng phương pháp SPECT (gamma camera) được thực hiện tại bệnh viện 175 của Quân đội tại thành phố Hồ Chí Minh. Kết quả được chỉ ra ở hình 2.

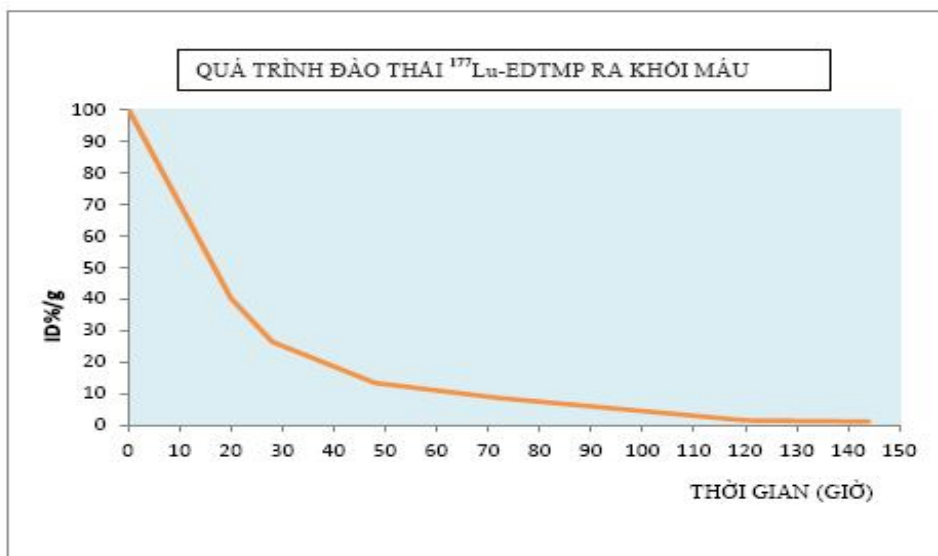


Hình 2. Kết quả phân bố ^{177}Lu -EDTMP trên thỏ được ghi hình bằng gamma camera SPECT. Từ kết quả nhận được ở trên cũng cho thấy ^{177}Lu -EDTMP tập trung chủ yếu trong bộ khung xương của thỏ.

4.2. Khảo sát sự đào thải ^{177}Lu -EDTMP ở thỏ

Sau các khoảng thời gian khác nhau sau khi tiêm, máu được lấy ra, đo hoạt độ phóng xạ của ^{177}Lu -EDTMP. Dựa trên liều phóng xạ tiêm ban đầu và liều phóng xạ đo tại thời

điểm lấy máu sẽ tính được sự đào thải ra khỏi máu của dược chất phóng xạ trên thỏ. Kết quả đo được biểu diễn trên các giản đồ: trục hoành là trục biểu diễn thời gian, trục tung biểu diễn hoạt độ phóng xạ đo đếm được theo thời gian. Kết quả đo hoạt độ phóng xạ ^{177}Lu -EDTMP theo thời gian trong các mẫu máu của thỏ được trình bày trong hình 3.



Hình 3. Giản đồ khảo sát quá trình đào thải ra khỏi máu của ^{177}Lu -EDTMP đối với thỏ

Nhận xét: ^{177}Lu -EDTMP bị đào thải ra khỏi máu khoảng 10% sau 50 giờ (2,1 ngày) và gần như hết hoàn toàn sau 130 giờ (5,4 ngày). Như vậy, có thể đánh giá là việc sử dụng ^{177}Lu -EDTMP để chẩn đoán và điều trị di căn ung thư xương là hoàn toàn chính xác. Dược chất được tiêm vào động vật thí nghiệm, ngoài lượng tập trung trong xương, phần còn lại được đào thải khỏi cơ thể sau 5,4 ngày.

5. KẾT LUẬN

Sau khi nghiên cứu về khả năng phân bố và đào thải của ^{177}Lu -EDTMP trên động vật thí nghiệm cho phép chúng tôi rút ra những kết luận sau đây:

1. Sự phân bố của dược chất ^{177}Lu -EDTMP chủ yếu tập trung ở xương; điều này hoàn toàn phù hợp với những công trình đã công bố trước đây [2, 6]
2. Khả năng đào thải hoàn toàn dược chất này ra khỏi máu đối với thỏ là sau 5,4 ngày (130 giờ)
3. Kết hợp với số liệu phân tích đánh giá chất lượng thuốc của Viện kiểm nghiệm dược và Viện Nghiên cứu hạt nhân đối với dược chất trên, có thể phối hợp với một số bệnh viện có khoa y học hạt nhân để thử nghiệm lâm sàng trên các bệnh nhân tình nguyện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Edita Mjekiqi. Estimation of the absorbed dose to patients treated with ^{177}Lu -Dotatate with regards to the long-term retention and radionuclide impurity in the form of $^{177\text{m}}\text{Lu}$. Master's Thesis, Department of Physics, Lund University, Germany 2012.

2. Tapas Das, Sudipta Chakraborty, Sharmila Banerjee, K.V. Vimalnath Nair, Viju Chirayil and Meera Venkatesh. (2009) ^{177}Lu -EDTMP: A new radiopharmaceutical for palliation of bon pain in cancer. BARC Newslleter, Bhabha center, India , N^O305, p1-10.
3. Lê Văn Sơ. (2000) Nghiên cứu điều chế các chế phẩm phóng xạ đồng vị Sm-153, Re-186, các dược chất phóng xạ ^{153}Sm -EDTMP, ^{131}I -MIBG, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMPAO và các kit T3, T4. Báo cáo kết quả thực hiện đề tài nghiên cứu khoa học cấp bộ năm 1996-1999.
4. Jeffray N. Brayan, David Bomarito, Dae Young kim, et al... (2009) Comparison of systemic toxicities of ^{177}Lu -DOTMP and ^{153}Sm -EDTMP administrered intravennuosly at equivalent skeletal doses to normal Dogs. Journal of Nuclear Medicine Technology Vol. 37, No.1, pp 45-52.
5. CHARLES B. SAMPSON. EXTBOOK OF RADIOPHARMACY (2002) Theory and Practice. Second Edition, Addenbrooke's Hosptal Cambridge, UK ; Gordon and Breach Science Publishers.
6. Ali Buhrami-Samani, Akbar Anvari, Amir Reza Jalilian, Simindokht Shirvani-Arami, Hassan Yousefnia. (2012) Production, Quality Control and Pharmacokinetic Studies of ^{177}Lu EDTMP foe Human Bone Pain Palliation Therapy Trials. Iranian Journal of Pharmaceutical Research; No 11(1), pp 137-144.