



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

① CH 649 924 A5

⑤ Int. Cl.⁴: A 61 K 49/02

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

⑰ Gesuchsnummer:	4896/79	⑦③ Inhaber:	E.I. Du Pont de Nemours & Company, Wilmington/DE (US)
⑳ Anmeldungsdatum:	25.05.1979		
㉓ Priorität(en):	25.05.1978 US 909385	⑦② Erfinder:	Camin, Leopoldo L., Lexington/MA (US) Liteplo, Maria P., Bedford/MA (US)
㉔ Patent erteilt:	28.06.1985		
④⑤ Patentschrift veröffentlicht:	28.06.1985	⑦④ Vertreter:	E. Blum & Co., Zürich

⑤④ **Reduktionsmaterial zur Reduktion von Technetium unter Bildung eines technetiummarkierten Liganden.**

⑤⑦ Das Reduktionsmaterial zur Reduktion von Technetium unter Bildung eines technetiummarkierten Liganden besteht aus einem pharmakologisch verträglichen Substrat und einem daran gebundenen reduzierenden Komplex aus Reduktionsmittel und einem chelatbildenden Liganden, welcher befähigt ist, sowohl das Substrat als auch das Reduktionsmittel zu binden, wobei der Komplex ein Redoxpotential aufweist, das zur Reduktion von Technetium (VII) in einen Oxidationszustand ausreicht, bei dem der genannte technetiummarkierte Ligand gebildet wird.

PATENTANSPRÜCHE

1. Reduktionsmaterial zur Reduktion von Technetium unter Bildung eines technetiummarkierten Liganden, dadurch gekennzeichnet, dass es aus einem pharmakologisch verträglichen Substrat und einem daran gebundenen reduzierenden Komplex aus Reduktionsmittel und einem chelatbildenden Liganden besteht, welcher befähigt ist, sowohl das Substrat als auch das Reduktionsmittel zu binden, wobei der Komplex ein Redoxpotential aufweist, das zur Reduktion von Technetium (VII) in einen Oxidationszustand ausreicht, bei dem der genannte technetiummarkierte Ligand gebildet wird.

2. Material nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Reduktionsmittel über einen chelatbildenden Liganden an das Substrat gebunden ist.

3. Material nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Reduktionsmittel aus Stannoionen, Ferroionen, Cuproionen oder Ferri-Ascorbatkomplexen besteht.

4. Material nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Reduktionsmittel aus Stannoionen besteht.

5. Material nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Substrat in Form von Teilchen vorliegt.

6. Material nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Substrat aus der Innenseite einer Phiole besteht.

7. Material nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass der chelatbildende Ligand ein heteromakrozyklischer Ligand mit einem vierzehn- bis sechzehngliedrigen Ring ist.

8. Material nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass der chelatbildende Ligand eine multifunktionelle Verbindung mit funktionellen Gruppen $-SH$, $-COOH$, $-NH_2$ und/oder $-OH$ ist.

9. Material nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass der chelatbildende Ligand 8-Hydroxychinolin, Dihydroloipoamid, Aminodiessigsäure oder Äthylendiaminotriessigsäure ist.

10. Material nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Substrat Glas oder ein natürliches oder synthetisches Polymer ist.

11. Material nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Substrat ein Material mit freien Hydroxylgruppen ist.

12. Material nach Anspruch 1, bestehend aus einem Stanno-Reduktionsmittel, das an ein Substrat aus Glas oder einem natürlichen oder synthetischen Polymer durch 8-Hydroxychinolin, Dihydroloipoamid, Iminodiessigsäure oder Äthylendiaminotriessigsäure als chelatbildendem Liganden gebunden ist.

13. Material nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass das Substrat aus der Innenfläche einer Phiole besteht.

14. Verfahren zur Herstellung eines mit Technetium-99m markierten Liganden, dadurch gekennzeichnet, dass der zu markierende Ligand und Pertechnetat in Anwesenheit des Reduktionsmaterials gemäss Anspruch 1 gemischt wird und das verbleibende Reduktionsmaterial dann von dem mit Technetium markierten Liganden abgetrennt wird.

15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass der zu markierende Ligand ein Plasmaprotein, Gammaglobulin, Albumin, ein Antikörper oder eine Fraktion davon, Phytat, Fibrinogen, ein Diphosphonat, ein Phosphat, eine Polyaminopolycarbonsäure, Gluconat, Glucoheptonat oder N-(2,6-Dimethylphenylcarbamoylmethyl)-iminodiessigsäure oder N-(2,6-Diisopropylphenylcarbamoylmethyl)-iminodiessigsäure oder N-(4-Butylphenylcarbamoylmethyl)-iminodiessigsäure ist.

16. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass ein Reduktionsmaterial nach Anspruch 2 verwendet wird.

17. Mittel zur Ausführung des Verfahrens gemäss Anspruch 14 in Form eines Gefässes, enthaltend einen zur Verwendung als radiopharmazeutische Zusammensetzung mit Technetium-99m zu markierenden Liganden, welcher ein Plasmaprotein, Gammaglobulin, Albumin, ein Antikörper oder eine Fraktion eines solchen, Phytat, Fibrinogen, Äthylhydroxydiphosphonat, Methyldiphosphonat, Pyrophosphat, Äthylendiaminotetraessigsäure, Diäthylentriaminpentaessigsäure, Gluconat, Glucoheptonat oder N-(2,6-Dimethylphenylcarbamoylmethyl)-iminodiessigsäure oder N-(2,6-Diisopropylphenylcarbamoylmethyl)-iminodiessigsäure oder N-(4-Butylphenylcarbamoylmethyl)-iminodiessigsäure ist, und ein Reduktionsmaterial gemäss einem der Ansprüche 1 bis 13.

18. Mittel nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass das Reduktionsmaterial aus einem Stannoionen enthaltenden Reduktionsmittel besteht, das an ein pharmazeutisch annehmbares Substrat aus Glas oder einem natürlichen oder synthetischen Polymerisat durch einen chelatbildenden Liganden, und zwar 8-Hydroxychinolin, Dihydroloipoamid, Aminodiessigsäure oder Äthylendiaminotriessigsäure, gebunden ist.

19. Mittel nach Anspruch 17 oder 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Innenfläche des Gefässes das Substrat des Reduktionsmaterials bildet.

30

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Reduktionsmaterial zur Reduktion von Technetium unter Bildung eines technetiummarkierten Liganden, ein Verfahren zur Herstellung eines mit Technetium-99m markierten Liganden, sowie ein Mittel zur Durchführung dieses Verfahrens.

Erfindungsgemässe Reduktionsmittelzusammensetzungen zur Reduktion von Technetium unter Bildung von mit Technetium markierten Liganden umfassen ein pharmakologisch verträgliches Substrat, an welchem ein reduzierender Komplex aus Reduktionsmittel und einem Liganden fixiert ist, dessen Redoxpotential zur Reduktion des Technetiums aus dem +7-Oxidationszustand in einen Oxidationszustand ausreicht, bei dem der technetiummarkierte Ligand gebildet wird. Vorzugsweise ist der reduzierende Komplex ein Reduktionsmittel für Technetium und gleichzeitig ein chelatbildender Ligand dafür. Mit Technetium markierte Liganden werden durch Vermischen solcher Liganden mit Pertechnetat in Anwesenheit des erfindungsgemässen Reduktionsmittels und Abtrennung des Reduktionsmittels von dem erhaltenen markierten Ligand erhalten. Mit Technetium markierte Liganden, die nahezu frei von dem zu ihrer Herstellung verwendeten Reduktionsmittel sind, können auf diese Weise erhalten werden.

Die Verwendung von Tracerverbindungen, welche Strahlung innerhalb des Körpers abgeben, als medizinische Hilfen ist seit langem bekannt. Solche Stoffe wurden zum Testen der Leberfunktion und der Gallendurchlässigkeit, für die Analyse der physiologischen Struktur und Funktion der Nieren, zur Abbildung des Knochenmarks, zum Abtasten der Struktur des Knochengewebes von Säugetieren, zur Abbildung von Blutansammlungen, zur Feststellung von Tumoren und zur Analyse der Lungen usw. verwendet.

Eine weitere Entwicklung auf dem Gebiet der Radionuklide ist die Feststellung, Lokalisierung und Einschätzung von Infarkten an verschiedenen Stellen des Körpers. Ein Infarkt ist ein Bereich toten Gewebes, verursacht durch vollständige Unterbrechung der Blutzufuhr zu diesem Gewebe,

für gewöhnlich als Ergebnis eines Verschlusses der das Blut zuführenden Arterie. Infarkte können im wesentlichen an jeder Stelle des Körpers auftreten, die gefährlichsten Infarkte sind im Gehirn und die Infarkte im Myokardium oder Herzmuskel, verursacht durch Thromben, Embolien, Arteriosklerose usw. Zahlreiche Versuche zur Verwendung von Radionukliden zur Feststellung der Anwesenheit von Infarkten und zur Einschätzung ihrer Grösse und ihres Sitzes wurden bereits unternommen.

Radioaktiv markierte Verbindungen, die selektiv in infarktbehaftetes Gewebe eingeführt wurden, wurden für diese Zwecke verwendet. Technetium-99m (^{99m}Tc) ist ein bevorzugtes Radionuklid für die radioaktive Abtastung von Organen, und zwar wegen seiner kurzen Halbwertszeit und weil es Gammastrahlen abgibt, die, verglichen z. B. mit Betastrahlen, leicht gemessen werden können.

Die Verwendung von Technetium-99m in radiopharmazeutischer Form wurde eine wichtige, nicht-aggressive Methode zur Diagnose mit einem breiten medizinischen Anwendungsgebiet, und zwar wegen seiner leichten Verfügbarkeit von einer Generatorquelle, seiner 140 KeV Gammastrahlung und seiner 6-stündigen Halbwertszeit.

Technetium-99m wird entweder durch Extraktion von Molybdän-99 mit einem Lösungsmittel wie Methyläthylketon oder durch Eluierung von einer Aluminiumoxidsäule oder einem anderen Träger, auf dem das Elternisotop Molybdän-99 adsorbiert ist, mit einem wässrigen Medium erhalten. Die unter diesen Bedingungen wahrscheinlich stabilste chemische Form ist das Pertechnetat (TcO_4^-) im +7-Oxidationszustand. Die meisten Radiopharmazeutika auf der Basis von Technetium erfordern indessen eine Reduktion in den +3-, +4- oder +5-Oxidationszustand. Derzeit werden diese Radiopharmazeutika häufig durch Kombination eines Überschusses der für die Markierung erforderlichen Verbindung mit einem Reduktionsmittel, Gefriertrocknung dieser Mischung und Zusatz von Pertechnetat erhalten.

Geeignete Reduktionsmittel sind seit einiger Zeit bekannt. Beispiele hierfür umfassen zweiwertige Stannoionen (Sn^{++}) in Form von Stannochlorid, -tartrat und -phosphat, Ferroverbindungen (Fe^{++}), Ferri-Ascorbatkomplexe und reduziertes Zirkon. Solche Reduktionsmittel dienen zum Binden von radioaktivem ^{99m}Tc an Träger, z. B. chelatbildende Mittel, rote Blutzellen, Albumin und andere Proteine, sowie an verschiedene andere Verbindungen, die selektiv bestimmte Körperorgane aussuchen, um so das ^{99m}Tc mit sich zu solchen Körperorganen zu transportieren, wo das ^{99m}Tc konzentriert wird, so dass ein solches Organ dann für diagnostische oder andere Zwecke, z. B. für die radioaktive Behandlung eines pathologischen Zustands, radioaktiv abgetastet oder abgebildet werden kann. Verwiesen wird auf Journal of Nuclear Medicine, Band 11, Nr. 12, 1970, Seite 761; Journal of Nuclear Medicine, Band 12, Nr. 1, 1971, Seiten 22–24; Journal of Nuclear Medicine, Band 13, Nr. 2, 1972, Seiten 180–181; Journal of Nuclear Medicine, Band 12, Nr. 5, Mai 1971, Seiten 204–211; Radiology, Band 102, Januar 1972, Seiten 185–196.

Allgemein erhält man ein radiopharmazeutisches Produkt mit einem mit Technetium-99m markierten Liganden ($^{99m}\text{Tc-L}$) durch Vermischen von zwei Komponenten. Eine erste, ein Reduktionsmittel enthaltende Komponente, z. B. Stannoionen, und der zu markierende Ligand (L) werden zur Erzielung des Produkts mit einer aus einem Generator stammenden Lösung von radioaktivem Pertechnetat gemischt. Das radiopharmazeutische Produkt enthält somit den mit Technetium markierten Ligand, Stanno- und Stanni-Ligand-Komplexe, und überschüssigen Ligand, welcher dazu dient, sicherzustellen, dass Stanno- oder Stannisalze nicht aus der Lösung ausfallen, und dass die Menge freies Pertechnetat

oder in der Lösung enthaltenes, reduziertes, nicht an den Liganden gebundenes Technetium verringert wird.

Das vorstehende Verfahren bietet bestimmte Nachteile. Zunächst bleibt das Reduktionsmittel, obwohl es für die Wirkung des erhaltenen radiopharmazeutischen Produkts nicht notwendig ist, in demselben und wird dem Patienten verabreicht. Obwohl die Anwesenheit von Zinn oder anderen, zur Herstellung dieser Produkte in der Regel verwendeter Reduktionsmittel sich als nicht schädlich erwiesen hat, ist die Injektion unnötiger Chemikalien in einen Patienten doch nicht wünschenswert. Es wäre somit gut, das Reduktionsmittel aus dem Endprodukt abzutrennen oder zu entfernen.

Ein weiterer Nachteil tritt dann auf, wenn der zu markierende Ligand selten oder schwer erhältlich ist, oder wenn der zu markierende Ligand für den Patienten schädlich sein könnte und somit die injizierte Menge auf einem Minimum gehalten werden muss. Unter solchen Umständen ist es wünschenswert, kleine Mengen des Liganden in wirksamer Weise zu markieren und überhaupt keinen überschüssigen Ligand in dem Markierungsverfahren zu verwenden.

Wenn Stannochlorid in üblicher Weise als Reduktionsmittel zur Markierung von Radiopharmazeutika mit ^{99m}Tc verwendet wird, wird das überschüssige Zinn mit der zu markierenden Verbindung ebenfalls eine Chelatbindung eingehen. Überschüssiges, nicht-komplexgebundenes Zinn bildet oft ein Kolloid, welches die Verwendung des Produkts stört. Für die meisten mit ^{99m}Tc markierten Radiopharmazeutika bildet das Zinn keinen integralen Teil des Tc-Komplexes, sondern dient nur als Reduktionsmittel für Pertechnetat. Es liegt daher auf der Hand, dass ein Reduktions-Markierungssystem, in welchem Reduktionsmittel aus dem fertigen markierten Produkt entfernt wird, äusserst erwünscht ist.

Die vorliegende Erfindung schafft Materialien, die ein fixiertes Reduktionsmittel für Technetium enthalten, sowie Methoden zur Herstellung radioaktiver Liganden, insbesondere von Radiopharmazeutika, bei denen die erfindungsgemässen Materialien eingesetzt werden, und die nach diesem Verfahren erhaltenen Radiopharmazeutika. Eine Aufgabe der Erfindung ist somit die Schaffung eines Reduktionsmaterials zur Reduktion von Technetium, bestehend aus einem pharmakologisch verträglichen Substrat, an welches ein reduzierender Komplex aus Reduktionsmittel und einem Liganden gebunden ist, dessen Redoxpotential ausreicht, um Technetium aus dem +7-Oxidationszustand in einen Oxidationszustand zu reduzieren, in welchem das Technetium einen verhältnismässig stabilen Komplex mit einem zu markierenden Liganden bildet. Vorzugsweise enthält der reduzierende Komplex ein Reduktionsmittel und einen chelatbildenden Liganden, um das Reduktionsmittel an das Substrat zu binden.

Die Erfindung schafft ferner eine Methode zur Herstellung von mit Technetium-99m markierten Radiopharmazeutika, wobei eine Technetium-99m und einen zu markierenden Liganden enthaltende Lösung mit einem erfindungsgemässen Reduktionsmaterial so lange gemischt wird, insbesondere bis nahezu das gesamte Technetium-99m reduziert und dieser Ligand mit Technetium-99m markiert ist, worauf man das Reduktionsmittel von dem mit Technetium-99m markierten Liganden abtrennt; dabei besteht das Reduktionsmaterial aus einem abtrennbaren Material aus einem pharmakologisch annehmbaren Substrat, an welches ein reduzierender Komplex aus Reduktionsmittel und einem Liganden gebunden ist, dessen Redoxpotential zur Reduktion von Technetium-99m aus dem +7-Oxidationszustand in einen Oxidationszustand ausreicht, in welchem dieses Technetium-99m einen verhältnismässig stabilen Komplex mit dem zu markierenden Liganden bildet. Unter «verhältnismässig stabiler Komplex» wird ein Komplex verstanden, welcher in-

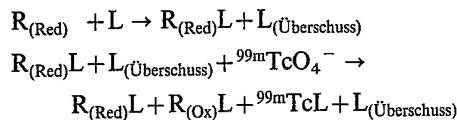
nerhalb der zur Verwendung des Produkts erforderlichen Zeit sich nicht aufspaltet. Wie dem Fachmann bekannt ist, kann diese Zeitspanne von einigen Sekunden bis zu einem Tag oder länger betragen, je nach dem zu verwendenden spezifischen diagnostischen Test.

Der hier verwendete Ausdruck «pharmakologisch verträgliches oder annehmbares Substrat» bedeutet ein während seiner pharmakologischen Verwendung chemisch inertes Substrat, das bei der pharmakologischen Verwendung keine giftigen, karzinogenen oder anderen schädlichen Stoffe abgibt und nach üblichen Methoden sterilisiert werden kann. Insbesondere kann das pharmakologisch verträgliche Substrat bei Verwendung für parenterale Präparate keine Pyrogene abgeben.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung erhält man mit Technetium-99m markierte Pharmazeutika, die nahezu frei von Reduktionsmittel sind.

Es folgt eine detaillierte Beschreibung der Erfindung:

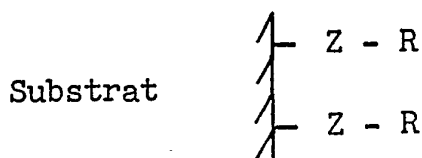
Mit Technetium-99m markierte Radiopharmazeutika werden in der Regel bei Bedarf durch Vermischen eines radioaktiv zu markierenden Liganden (L) und eines Reduktionsmittels (R), z. B. Stannochlorid, mit einer Salzlösung von Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) erhalten. Das Pertechnetat wird unter Bildung von mit Technetium-99m markiertem Ligand (^{99m}TcL) reduziert. Dies kann schematisch wie folgt dargestellt werden:



Darin ist $R_{(\text{Red})}$ das Reduktionsmittel in seinem niedrigeren Oxidationszustand und $R_{(\text{Ox})}$ bedeutet das Reduktionsmittel in seinem höheren Oxidationszustand. Bei einem solchen Verfahren wetteifert das Reduktionsmittel mit Technetium um Bindungsstellen an dem zu markierenden Liganden und ein grosser Überschuss an Ligand ist erforderlich, um zu gewährleisten, dass das gesamte Reduktionsmittel und das gesamte Technetium komplex gebunden werden, so dass sie nicht aus der verwendeten Lösung ausfallen können.

Die Erfindung schafft ein Reduktionsmaterial zur Reduktion von Technetium unter Bildung von Radiopharmazeutika, dessen Redoxpotential zur Reduktion von Technetium ausreicht, welches jedoch nicht so leicht mit dem Technetium um die Komplexbildung mit dem zu markierenden Liganden wetteifert. Die erfindungsgemässen Reduktionsmaterialien bilden somit eine getrennte oder abtrennbare Phase, die leicht von dem mit Technetium markierten pharmazeutischen Präparat abgetrennt werden kann.

Die erfindungsgemässen Reduktionsmaterialien bestehen aus einem pharmakologisch verträglichen Substrat mit einem daran gebundenen, reduzierenden Komplex. Der reduzierende Komplex kann ein bekannter Stoff sein, dessen Redoxpotential zur Reduktion von Technetium aus dem +7-Oxidationszustand ausreicht. Geeignete reduzierende Komplexe sind Oxidations/Reduktionspolymerisate, wie sie von Cassidy et al. in Oxidation-Reduction Polymers (Redox Polymers), Interscience Publishing (1965) beschrieben sind. Vorzugsweise besteht der reduzierende Komplex aus einem Reduktionsmittel für Technetium und einem chelatbildenden Liganden für das Reduktionsmittel. Ein bevorzugtes Reduktionsmaterial kann somit wie folgt dargestellt werden:



worin Z ein chelatbildender Ligand für das Reduktionsmittel ist.

Jedes bekannte Reduktionsmittel für Technetium kann zur Herstellung der erfindungsgemässen Reduktionsmaterialien verwendet werden. Vorzugsweise ist das Reduktionsmittel ein Metallion, das an einem Substrat durch einen chelatbildenden Liganden immobilisiert werden kann. Nach der Komplexbildung mit dem chelatbildenden Ligand muss der Reduktionsmittelkomplex ein Redoxpotential besitzen, welches zur Reduktion von Technetium-99m aus dem +7-Oxidationszustand zu ^{99m}Tc -Ionen ausreicht, welche den zu markierenden Ligand binden können. Geeignete Reduktionsmittel sind z. B. Stannoionen, Ferroionen, Cuproionen, Ferri-Ascorbatkomplexe, und reduziertes Zirkon. Das Stannoion bildet für viele Anwendungszwecke ein bevorzugtes Reduktionsmittel für Technetium.

Chelatbildende Liganden für die obigen Reduktionsmittel sind bekannt. Verwiesen wird z. B. auf Cotton and Wilkinson, Advanced Inorganic Chemistry, Interscience Publishers (1962). Chelatbildende Liganden sind Verbindungen mit einer oder mehreren funktionellen Gruppen, welche sich mit dem reduzierenden Metall (sowohl in dessen reduzierter als auch oxidierte Form) verbinden können. Für die Erfindung geeignete, chelatbildende Liganden sind solche, die an ein Substrat, entweder direkt oder über eine verbindende Gruppe, gebunden werden können und die das Reduktionsmittel binden können. Bekanntlich sind bevorzugte chelatbildende Liganden Verbindungen mit mehreren funktionellen Gruppen, z. B. $-\text{SH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, Phosphat- und Phosphonatgruppen. Die Anzahl und die Konfiguration solcher funktioneller Gruppen bestimmen die Fähigkeit der Verbindung, spezielle Reduktionsmittel zu binden. Vorzugsweise koordiniert sich der chelatbildende Ligand mit dem Reduktionsmittel unter Bildung eines Ligand-Reduktionsmittelkomplexes, der stabiler ist (sowohl thermodynamisch als auch kinetisch), als ein entsprechender Komplex zwischen dem Reduktionsmittel und dem mit Technetium zu markierenden Ligand. Bevorzugte chelatbildende Liganden sind z. B. ein Polydentatligand, welcher einen 1:1 Komplex aus Ligand und reduzierendem Metallion bildet, derart, dass das Metallion koordinativ abgesättigt ist; ein makrozyklischer Ligand geeigneter Ringgrösse, vorzugsweise einer, in welchem alle koordinierenden Atome in einer planaren Koordination vorliegen; und ein bizyklischer oder polyzyklischer Ligand, der das Reduktionsmittel einkapseln kann.

Beispiele für chelatbildende Liganden, welche Stannoionen binden, sind z. B. Derivate von Äthylendiamintetraessigsäure, 8-Hydroxychinolin, Dehydrolipoamid, Iminodiessigsäure, natürliche und synthetische makrozyklische Komplexe mit mehrfachen N-, O- und/oder S-Atomen, insbesondere solche mit 14- bis 16-gliedrigen Ringen, z. B. Cyclam, Porphyrine und Corrine, usw., Polyzyklische Liganden mit N-, O- und S-Atomen, z. B. Cryptate, z. B. 2,2,2-Cryptat, Sepulchrate, usw., und dergl. Andere geeignete makrozyklische Liganden sind in Lehn, «Cryptates: the chemistry of macropolycyclic inclusion complexes», Acc. Chem. Res., 11, 49 (1978) und Christensen et al., Chem Reviews, 74, 351 (1974) beschrieben, worauf hier Bezug genommen wird.

Als Substrat für die Praxis der Erfindung eignet sich jedes pharmakologisch verträgliche, unter den Verwendungsbedingungen des erfindungsgemässen Reduktionsmaterials inerte Material, das sich leicht von dem mit Technetium markierten Produkt trennen lässt, im wesentlichen irreversibel an den chelatbildenden Liganden oder den reduzierenden Komplex entweder direkt oder über eine Zwischengruppe gebunden werden kann, und das vorzugsweise keine merkliche Menge des markierten Produkts adsorbiert oder absorbiert. Unter «im wesentlichen irreversibel» ist zu verstehen,

dass das Substrat und der chelatbildende Ligand oder der reduzierende Komplex unter den Verwendungsbedingungen gebunden bleiben. Vorzugsweise ist die Bindung eine kovalente Bindung, die durch Reaktion zwischen dem Substrat und dem chelatbildenden Liganden oder reduzierenden Komplex entstanden ist.

Erfindungsgemäss geeignete Substrate sind solche, die steril und vorzugsweise pyrogenfrei gemacht werden können. Ausserdem besitzen erfindungsgemäss bevorzugte Substrate noch eine grosse Oberfläche, die die Fixierung einer grossen Anzahl von mit Metall eine Chelatbindung eingehenden Liganden zulässt. Geeignete Substrate sind z. B. Glas und natürliche und synthetische Polymerisate, z. B. Zellulose, Polyacrylamid, Polyglycerylindextran und dergleichen. Bestimmte Stoffe sind als Substrate im Hinblick auf eine pharmakologische Endverwendung weniger erwünscht. Zum Beispiel kann Glas leicht sterilisiert werden, z. B. in einem Dampfautoklaven, während Chelex 100TM, ein Styrol-co-divinylbenzolderivat mit Iminodiessigsäure, leicht durch Dampfsterilisation oder durch starke Oxidationsmittel zerstört werden kann. Die Sterilisation von Chelex 100TM durch Äthylenoxid kann die Fähigkeit zur Chelatbildung beeinträchtigen. Es besteht daher kein zufriedenstellendes übliches Sterilisationsverfahren für dieses Material. Natürlich ist Chelex 100TM zufriedenstellend, wenn keine Sterilisation erforderlich ist.

Vorzugsweise werden solche Substrate in Form von Teilen oder Perlen verwendet. Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform besteht das Substrat aus der Innenseite einer Phiole, z. B. einer Glasphiole, welche später das Radiopharmazeutikum enthalten wird, und vorzugsweise zur Erzielung einer maximalen Oberfläche geätzt und so präpariert wurde, dass sie geeignete Angriffsstellen für die Fixierung von ein Metallchelate bildenden Liganden, die zur Bindung des Reduktionsmittels dienen, bietet. Für den Fachmann liegt auf der Hand, dass zur Durchführung der Erfindung eine grosse Vielzahl von Substraten verwendet werden kann. Alle diese Substrate fallen somit in den Rahmen der Erfindung.

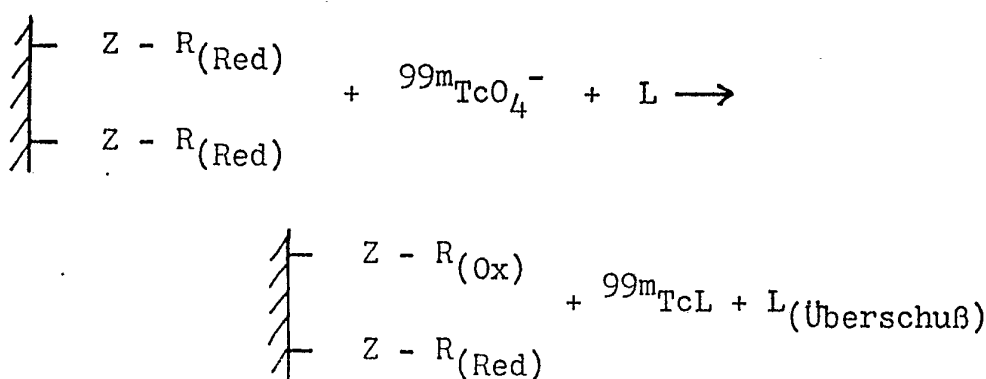
Substrate, an die bereits chelatbildende Liganden gebunden sind, sind im Handel als funktionelle Glasperlen, z. B. solche mit geregelter Porosität, wie sie von der Corning Glass (z. B. als CPG-550) erhältlich sind, zu haben. Andere handelsübliche Substrate sind z. B. unter den Warenzeichen

Sephadex, Sephacell und Sephacryl von Pharmacia Fine Chemical Co. und als Biogel P von BioRad verkaufte Materialien.

Erfindungsgemässe Reduktionsmaterialien sind leicht herstellbar. Einige Kombinationen von chelatbildendem Ligand und Substrat sind im Handel zu haben, und das Reduktionsmittel braucht lediglich durch Vermischen einer Lösung des Reduktionsmittels mit der Kombination Substrat-chelatbildender Ligand zur Bindung des Reduktionsmittels in das Chelat übergeführt zu werden. Das Reduktionsmaterial wird dann zweckmässig aus der Lösung abgetrennt, zur Abtrennung von ungebundenem Reduktionsmittel gespült und getrocknet.

Wenn ein Substrat mit dem gewünschten chelatbildenden Ligand nicht im Handel zu haben ist, wird gewöhnlich der gewünschte chelatbildende Ligand nach bekannten chemischen Reaktionen an das Substrat gebunden. Zum Beispiel können viele chelatbildende Liganden an Substrate mit freien Hydroxylgruppen nach der bekannten Cyanogenbromidreaktion gebunden werden. Verwiesen wird z. B. auf Axen et al., «Chemical coupling of peptides and proteins to polysaccharides by means of cyanogen halides», *Nature*, 214, 1302-1304 (1967). Andere bekannte Reaktionen für bestimmte Kombinationen von Substraten und chelatbildenden Liganden sind dem Fachmann bekannt. Verwiesen wird z. B. auf Weetall, «Enzymes immobilized on inorganic carriers», *Res/Dev*, pp. 18-22 (Dez. 1971); Baumann et al., «Coupled ligand chromatography applications to trace element collection and characterization», *Analyt Chem*, 39, 932-935 (1967); Gozdicka-Zozefiak, «Preparation of chelating exchangers with a polysaccharide network and low crosslinkage», *J. of Chromatography*, 131, 91-97 (1977); Leyden et al., «Preconcentration of trace metals using chelating groups immobilized via silylation», *Analyt Chem*, 47, pp. 1612-1616 (Aug. 1975); und Schmuckler, «Chelating resins - their analytical properties and applications», *Talanta*, 12, pp. 281-290 (1965).

Mit Technetium-99m markierte Liganden erhält man gemäss der Erfindung durch Vermischen des zu markierenden Liganden mit Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) in Anwesenheit des vorstehend beschriebenen Reduktionsmaterials. Die Reaktion lässt sich schematisch wie folgt darstellen:



Das Reduktionsmaterial kann von dem mit Technetium markierten Produkt abgetrennt werden.

Jeder mit Technetium-99m markierbare Ligand kann gemäss der Erfindung markiert werden. Besonders geeignete Liganden sind Polyhydroxy-polycarbonsäuren, Aminocarbonsäuren, Phosphonate, Phosphate und Mercaptane, etc. Beispiele für solche Liganden sind z. B. Plasmaproteine,

z. B. menschliches Serumalbumin (HSA), Äthylhydroxydiphosphat (EHDP), Methylendiphosphonat (MDP), Pyrophosphat, Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA), Diäthylentriaminpentaessigsäure (DTPA), Dimercaptobernsteinsäure (DSMA), Gluconat, Glucoheptonat, N-(2,6-Dimethylphenyl)carbamoylmethyliminodiessigsäure (HIDA), Analoge von HIDA, z. B. N-(2,6-Diisopropylphenyl)carba-

moylmethyl)iminodiessigsäure (PRIDA), N-(4-Butylphenyl-carbamoylmethyl)iminodiessigsäure (BIDA), Gerinnungsfaktoren, z. B. Fibrinogen, gamma-Globuline, Antikörper und deren Fraktionen, Phytat und dergleichen.

Wenn das Reduktionsmittel erfindungsgemäss an ein Substrat gebunden ist, konkurriert es nicht leicht mit dem reduzierten Technetium-99m um Bindungsstellen an dem zu markierenden Liganden. Deshalb ist weniger Ligand erforderlich, um sicherzustellen, dass freies (nicht an einen Liganden gebundenes) Technetium-99m sich in dem radiopharmazeutischen Produkt auf einem annehmbaren Mindestwert befindet. Die Erfindung macht daher die Markierung biologisch aktiver Stoffe, die nur in kleinen Mengen zur Verfügung stehen, sowie die Markierung von Stoffen praktikabler, die keine eigene Bindungsstelle besitzen und in denen eine solche Bindungsstelle synthetisch angefügt wird.

Für den Fachmann ist es selbstverständlich, dass der chelatbildende Ligand Z so gewählt werden soll, dass er unter den Verwendungsbedingungen ein stabiles Reduktionsmaterial ergibt. Der chelatbildende Ligand soll mit dem Reduktionsmittel einen Komplex bilden, der stabil genug ist (kinetisch und/oder thermodynamisch), dass das Reduktionsmittel nicht durch reduziertes Technetium-99m verdrängt und auch nicht von dem zu markierenden Ligand abgezogen wird. Es ist somit klar, dass die Wahl des chelatbildenden Liganden von dem speziellen, zu markierenden Liganden und von dem zu verwendenden speziellen Reduktionsmittel abhängt. Vorzugsweise soll der chelatbildende Ligand eine stärkere Affinität für das Reduktionsmittel als für Technetium-99m besitzen, und er soll eine stärkere Affinität für das Reduktionsmittel besitzen als der zu markierende Ligand sie für das Reduktionsmittel hat.

Chelatbildende Liganden, die sich insbesondere bei Verwendung von Stannoionen als Reduktionsmittel als geeignet erwiesen haben, sind z. B. 8-Hydroxychinolin, Dihydroliponamid, Iminodiessigsäure, Derivate von Äthylendiamintetraessigsäure und dergleichen.

Ganz allgemein können gemäss der Erfindung Radiopharmazeutika hergestellt werden, die weniger als 1,0 µg pro ml Reduktionsmittel (berechnet auf der Basis des reduzierenden Metallionensalzes) in dem Produkt enthalten. Vorzugsweise werden Radiopharmazeutika mit weniger als 0,1 µg pro ml Reduktionsmittel auf dieser Basis und noch besser mit weniger als 0,001 µg pro ml hergestellt. Gemäss einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung erhält man Technetium-99m markierte Pharmazeutika, die «im wesentlichen frei» von Reduktionsmittel sind. Unter «im wesentlichen frei» von Reduktionsmittel ist zu verstehen, dass in dem radiopharmazeutischen Produkt weniger als 0,1 µg pro ml, berechnet auf obiger Basis, des Reduktionsmittels enthalten sind.

Dem Fachmann leuchtet ein, dass die Reduktionsmittelmenge in dem Produkt durch richtige Wahl des chelatbildenden Liganden für das jeweilig verwendete Reduktionsmittel und des zu markierenden Liganden sowie durch Regelung der Markierungsbedingungen, einschliesslich der Temperatur und des pH-Werts der Lösung und der Dauer, während welcher die Lösung sich mit dem Reduktionsmaterial in Kontakt befindet, auf einem Minimum gehalten werden kann.

Um daher die Reduktionsmittelmenge in dem markierten Produkt auf einem Minimum zu halten, soll man den chelatbildenden Liganden so wählen, dass der Reduktionsmittel-Chelatbildender Ligand-Komplex wesentlich stabiler ist als der Komplex Reduktionsmittel-Zu markierender Ligand und dass mit dem Reduktionsmittel ein nicht-labiler reduzierender Komplex gebildet werden kann. Das Reduktionsmittel selbst ist vorzugsweise ein nicht-labiles reduzierendes Me-

tallon (d. h. ein solches, welches langsam Bindungen eingeht und aufspaltet). Optimale bevorzugte Markierungsbedingungen, um die Reduktionsmittelmenge in dem Produkt auf einem Minimum zu halten, umfassen das Halten der Menge an zu markierendem Ligand, der Kontaktzeit zwischen dem Reduktionsmaterial und der Markierungslösung und der Menge des Reduktionsmaterials auf einem Minimum.

Es ist auch äusserst erwünscht, die Adsorption von Technetium-99m durch das Reduktionsmaterial auf einem Minimum zu halten, damit sich das Technetium in dem markierten Produkt befindet. Das kann zum Teil durch Einhaltung der vorstehend für die Erzielung einer Mindestmenge an Reduktionsmittel in dem Produkt genannten Bedingungen erreicht werden. Ausserdem soll man zweckmässig einen solchen chelatbildenden Liganden wählen, dass der Komplex Technetium-markierter Ligand wesentlich stabiler ist als ein Komplex aus Technetium und chelatbildendem Ligand, und man sollte sicherstellen, dass alle möglichen Bindungsstellen an dem chelatbildenden Ligand mit Reduktionsmittel abgesättigt sind. Ferner wurde gefunden, dass die Adsorption von Technetium durch das Reduktionsmaterial durch Erhöhung der Menge an zu markierendem Ligand auf einem Minimum gehalten werden kann. Die geeignete Wahl des chelatbildenden Liganden und des Reduktionsmittels für den speziellen zu markierenden Liganden ermöglicht den Erhalt sowohl einer Mindestmenge an Reduktionsmittel in dem Produkt als auch einer Mindestmenge an durch das Reduktionsmaterial adsorbiertem Technetium.

Dem Fachmann ist klar, dass verschiedene Bindungsfestigkeiten und bindungsbildende kinetische Vorgänge gemessen und/oder berechnet werden können, um so den geeigneten chelatbildenden Liganden und das geeignete Reduktionsmittel für den speziellen zu markierenden Liganden auszuwählen. In der Praxis hat es sich jedoch als einfacher erwiesen, eine Reihe von Versuchen mit verschiedenen Kombinationen von chelatbildendem Ligand und Reduktionsmittel für das Reduktionsmaterial durchzuführen und ein solches Reduktionsmaterial mit dem zu markierenden Liganden und Pertechnetat verschieden lang zu mischen, wobei sich etwa 5 Minuten bis 15 Minuten am geeignetsten erwiesen haben. Nach Ablauf einer solchen Zeit werden das Reduktionsmaterial und der markierte Ligand getrennt und die Reduktionsmittelmenge des markierten Liganden wird analysiert; ebenso wird die an dem Reduktionsmaterial adsorbierte Menge Technetium analysiert.

Die folgenden Beispiele erläutern die praktische Durchführung der Erfindung.

Beispiel 1

Eine 0,25 cm dicke poröse Polyäthylenfritte mit einer mittleren Porengrösse von 70 µm wurde in eine 7,0 cm hohe zylindrische Glassäule mit einem Aussendurchmesser von 1,0 cm und einem Innendurchmesser von 0,8 cm eingebracht. Oben wurden dann 0,5 mg Corning ED3A-CPG-550 Glasperlen mit geregelter Porengrösse von 550 Å gegeben; an die Glasoberfläche war eine Äthylendiamintriessigsäurekomponente kovalent gebunden. Zwei 0,65 cm hohe Gummischeidewände mit einem Durchmesser von 0,85 cm wurden in die Enden des Glaszylinders gedrückt, bis ihre Auslenkanten mit denen des Zylinders fluchteten. Eine Injektionsnadel wurde in die Scheidewand oben in der Säule eingeführt. In der Säule wurde durch diese Nadel ein Vakuum erzeugt und der Evakuierungsvorgang wurde mehrere Stunden fortgesetzt. Nach der Evakuierung wurde der freie Raum in der Säule mit gasförmigem Stickstoff auf Atmosphärendruck aufgefüllt.

Ein Gemisch von 60 mg Natriumglucoheptonat und 600 µg SnCl₂ · 2H₂O (durchgesetzt mit Sn-113) in 1,50 ml von

Sauerstoff befreitem Wasser, pH-Wert 5,0, 0,2 molar an Natriumacetat-Essigsäurepuffer, wurde in die mit Stickstoffgas gefüllte Säule gegeben. Diese mit Stannoionen beladene Säule kam dann 15 Minuten auf einen vertikalen Trommelmischer.

Nach dem Mischen wurde die mit Stannoionen beladene Lösung durch die Trennscheibe am Boden entnommen, während gleichzeitig der leere Raum bis auf Atmosphärendruck mit Stickstoffgas ersetzt wurde.

Ein ähnliches Verfahren wurde mit von Sauerstoff befreitem Wasser zum Auswaschen von etwa verbliebenem Glucoheptonat oder ungebundenen Stannoverbindungen durchgeführt.

Eine Mischung von 1,0 mg gereinigtes menschliches Serumalbumin in 1,5 ml von 0,9 Gew./Vol.% wässrigem Natriumchlorid, das mit verdünnter HCl auf einen pH-Wert von 2 eingestellt war, und 12,3 mCi Technetium-99m in Form von $^{99m}\text{TcO}_4^-$ wurde auf die vorstehende Säule aufgegeben und vertikal 15 Minuten gemischt. Die Mischung wurde aus der Säule abgezogen und kam in eine evakuierte Phiole. Dann wurde die Säule mit 1,5 ml 0,9 Gew./Vol.% wässrigem Natriumchlorid gewaschen. Dieses Waschwasser wurde mit der ersten Probe vereinigt und ergab ein Produkt, das 10,7 mCi mit Technetium-99m markiertes menschliches Serumalbumin mit 0,4 µg pro ml $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ enthielt.

Proben der vorstehenden Lösung wurden in die Schwanzvene von Ratten zur Auswertung als radiodiagnostisches Mittel zur Abbildung von Blutansammlungen eingespritzt. Andere Proben wurden auf Gelman ITLC (SG) chromatographische Streifen aufgebracht und in Methyläthylketon (MEK) zur Bestimmung von freiem Per technetat entwickelt.

Die Ergebnisse der Bioverteilung in Ratten 45 Minuten nach der Injektion von 0,25 ml der Probe waren die folgenden:

	% injizierte Dosis/Organ
Blut*	35,0
Leber	11,8
Milz	1,1
Lunge und Herz	4,8
Nieren	10,7
Magen- und Darmtrakt	5,3
Magen	0,4

* bezogen auf 5% Körpergewicht.

Das freie Per technetat betrug 4,0%, bestimmt nach der obigen chromatographischen Methode.

Beispiel 2

Eine Säule wurde präpariert und mit Stannoionen wie in Beispiel 1 beladen, mit der Ausnahme, dass 20 mg ED3A-CPG-550 Perlen auf die Fritte gegeben wurden.

Eine Mischung aus 60 mg Glucoheptylsäure in 1,5 ml 0,9 Gew./Vol.% wässrigem Natriumchlorid, das mit NaOH auf einen pH-Wert von 8 eingestellt war, und 94 mCi Technetium-99m in Form von $^{99m}\text{TcO}_4^-$ wurde auf die obige Säule aufgegeben und senkrecht 15 Minuten gemischt.

Proben hiervon wurden aus der Säule abgezogen und in die Schwanzvene von Ratten zur Auswertung als radiodiagnostisches Mittel zur Abbildung der Niere injiziert. Andere Proben wurden auf Gelman ITLC (SG) Chromatographiestreifen aufgebracht und in 0,9 Gew./Vol.%igem wässrigem Natriumchlorid und Methyläthylketon zur Bestimmung von Radiokolloid bzw. freiem Per technetat entwickelt.

Die Ergebnisse der Bioverteilung in Ratten 1 Stunde nach der Injektion von 0,25 ml der Probe waren die folgenden:

	% injizierte Dosis/Organ
Blut*	1,5
Leber	0,7
Nieren	21,8
Darmtrakt	4,7
Magen	0,1

* bezogen auf 5% Körpergewicht.

Radiokolloid war 0,9%, bestimmt mit ITLC (SG) in Salzlösung.

Freies Per technetat betrug 0,2%, bestimmt mit ITLC (SG) in Methyläthylketon.

Beispiel 3

Eine Säule wurde wie in Beispiel 1 präpariert und mit Stannoionen beladen, mit der Ausnahme, dass 20 mg der ED3A-CPG-550 Perlen auf die Fritte gegeben wurden.

Eine Mischung aus 1,0 mg Tetranatriumpyrophosphat in 1,5 ml 0,9 Gew./Vol.% wässrigem Natriumchlorid, das mit verdünnter HCl auf einen pH-Wert von 5 eingestellt war, und 49,0 mCi Technetium-99m in Form von $^{99m}\text{TcO}_4^-$ wurde oben auf die Säule aufgegeben und 15 Minuten senkrecht gemischt.

Proben der obigen Lösung wurden aus der Säule abgezogen und in die Schwanzvene von Mäusen zur Auswertung als radiodiagnostisches Mittel zur Knochenabbildung eingespritzt. Andere Proben wurden auf Gelman ITLC (SG) Chromatographiestreifen aufgegeben und in 0,9 Gew./Vol.% wässrigem Natriumchlorid und Methyläthylketon zur Bestimmung von Radiokolloid bzw. freiem Per technetat entwickelt.

Die Ergebnisse der Bioverteilung in Mäusen 3 Stunden nach der intravenösen Injektion von 0,05 ml der Probe waren die folgenden:

	% injizierte Dosis/Organ
Blut*	1,2
Leber	1,2
Nieren	1,4
Oberschenkelknochen	1,9
Magen-Darmtrakt und Magen	3,6

* bezogen auf 5% Körpergewicht.

Radiokolloid war 3,4%, bestimmt mit ITLC (SG) in Salzlösung.

Freies Per technetat betrug 6,2%, bestimmt mit ITLC (SG) in Methyläthylketon.

Beispiel 4

Eine Säule wurde wie in Beispiel 1 präpariert und beladen, mit der Ausnahme, dass auf die Fritte 20 mg der ED3A-CPG-550 Perlen aufgegeben wurden.

Eine Mischung aus 1,0 mg Methylendiphosphonsäure in 0,9 Gew./Vol.% wässrigem, mit NaOH auf einen pH-Wert von 5 eingestelltem Natriumchlorid und 71,2 mCi Technetium-99m als $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in 1,5 ml Gesamtvolumen wurde auf die Säule gegeben und 15 Minuten senkrecht gemischt.

Proben der obigen Lösung wurden aus der Säule abgezogen und in die Schwanzvene von Mäusen für die Auswertung als radiodiagnostisches Knochenabbildungsmittel injiziert. Andere Proben wurden auf Gelman ITLC (GS) Chromatographiestreifen gebracht und in Salzlösung und Methyläthylketon zur Bestimmung von Radiokolloid bzw. freiem Per technetat entwickelt.

Die Ergebnisse der Bioverteilung in Mäusen 1 Stunde nach der Injektion von 0,05 ml der Probe waren die folgenden:

	% injizierte Dosis/Organ
Blut*	0,7
Leber	0,6
Nieren	1,9
Oberschenkelknochen	2,1
Magen	0,2

* bezogen auf 5% Körpergewicht.

Freies Per technetat betrug 1,1%, bestimmt mit ITLC (SG) in Methyläthylketon.

Radiokolloid war 1,4%, bestimmt mit ITLC (SG) in 0,9 Gew./Vol.% wässrigem Natriumchlorid.

Beispiel 5

Eine Säule wurde wie in Beispiel 1 präpariert und mit Stannoionen beladen, mit der Ausnahme, dass auf die Fritte 20 mg ED3A-CPG-550 Perlen aufgegeben wurden.

Eine Mischung aus 20,0 mg N-(2,6-Dimethylphenyl-carbamoylmethyl)-iminodiessigsäure (HIDA) in 1,5 ml 0,9 Gew./Vol.% wässrigem Natriumchlorid, das mit NaOH auf einen pH-Wert von 5 eingestellt war, und 20,6 mCi Technetium-99m als ^{99m}TcO₄⁻ wurde auf die obige Säule aufgegeben und 15 Minuten senkrecht gemischt.

Proben der obigen Lösung wurden aus der Säule abgezogen und in die Schwanzvene von Mäusen für die Auswertung als radiodiagnostisches Leber-Gallenabbildungsmittel injiziert. Andere Proben wurden auf Gelman ITLC (SG) Chromatographiestreifen aufgebracht und in 0,9 Gew./Vol.% wässrigem Natriumchlorid zur Bestimmung von Radiokolloid entwickelt.

Die Ergebnisse der Bioverteilung in Mäusen 15 und 90 Minuten nach der Injektion von 0,15 ml der Probe waren die folgenden:

	% injizierte Dosis/Organ	
	15 Minuten	90 Minuten
Blut*	1,9	1,1
Magen	1,4	0,1
Darmtrakt und Gallenblase	70,3	76,8
Nieren	1,3	0,8
Leber	3,0	1,4

* bezogen auf 5% Körpergewicht.

Beispiel 6

Eine 0,25 cm dicke poröse Polyäthylenfritte mit einer mittleren Porengröße von 70 µm wurde in eine zylindrische 7,0 cm hohe Glassäule mit einem Aussendurchmesser von 1,0 cm und einem Innendurchmesser von 0,8 cm eingesetzt. Auf diese Fritte gab man 100 mg Corning-ED3A-CPG-550 Glasperlen mit geregelter Porengröße von 550 Å, wobei an die Glasoberfläche eine Äthylendiamin-triessigsäurekomponente kovalent gebunden war. Zwei Gummischeidewände, 0,65 cm hoch und mit einem Durchmesser von 0,85 cm, wurden in die Enden des Glaszylinders eingedrückt, bis ihre Aussenkanten mit denen des Zylinders fluchteten. In die Scheidewand am oberen Ende der Säule wurde eine Injektionsnadel eingeführt. In der Säule wurde durch diese Nadel dann ein Vakuum erzeugt. Nach der Evakuierung wurde der freie Raum in der Säule mit Stickstoffgas auf Atmosphärendruck aufgefüllt.

Ein Gemisch aus 200 mg Natriumglucoheptonat und 100 µg SnCl₂ · 2H₂O (versetzt mit Sn-113) in 1,50 ml von Sauerstoff befreitem Acetatpuffer, 0,1 molar, pH-Wert 5,0, wurde in die mit Stickstoff gefüllte Säule gegeben. Diese mit

Stannoionen beladene Säule kam dann 20 Minuten auf einen vertikalen Trommelmischer.

Nach dem Mischen wurde die Lösung dann durch die Bodenscheidewand entnommen, während der Freiraum gleichzeitig durch Stickstoff unter einem auf 1 Atmosphäre eingestellten Druck ersetzt wurde.

Ein ähnliches Verfahren wurde mit zusätzlichen 1,5 ml Anteilen Acetatpuffer und 0,9 Gew./Vol.% wässrigem Natriumchlorid mit pH 3 zum Auswaschen von etwaigem restlichem Glucoheptonat oder ungebundenen Stannoverbindungen angewendet.

Eine Mischung aus 25 mg gereinigtem menschlichem Serumalbumin in 1,5 ml 0,9 Gew./Vol.% wässrigem, mit verdünnter HCl auf pH 2 eingestelltem Natriumchlorid und 2,7 mCi Technetium-99m in Form von ^{99m}TcO₄⁻ wurde auf die vorstehende Säule aufgegeben und 15 Minuten senkrecht gemischt. Das Gemisch wurde aus der Säule abgezogen und kam in eine evakuierte Phiole. Dann wurde die Säule mit 1,5 ml 0,9 Gew./Vol.% wässrigem, auf pH 3 eingestelltem Natriumchlorid gewaschen. Dieses Waschwasser wurde mit der ersten Probe vereinigt und ergab ein Produkt, das 1,8 mCi mit Technetium-99m markiertes menschliches Serumalbumin enthielt.

Proben der vorstehenden Lösung wurden in die Schwanzvene von Ratten für die Auswertung als radiodiagnostisches Mittel zur Abbildung von Blutansammlungen injiziert. Andere Proben wurden auf Gelman ITLC (SG) Chromatographiestreifen aufgegeben, die in Methyläthylketon zur Bestimmung von freiem Per technetat entwickelt wurden. Eine weitere Probe wurde an einer Säule von Pharmacia Sephadex G100 fraktioniert und mit 0,9% Natriumchlorid eluiert. Die Ergebnisse waren die folgenden:

% als ^{99m}TcO₄⁻:
 5,5% durch Chromatographie an ITCL/Methyläthylketon;
 % Ts assoc. w HSA:
 100% durch Gelfiltration an G100; Bioverteilung in 2 Ratten, 45 Minuten nach Injektion,
 % im Blut:
 39 ± 0% (bezogen auf 5% Körpergewicht).

Beispiel 7

Ed3A-CPG-550 Perlen wurden mit Stannoionen nach dem Verfahren von Beispiel 1 beladen. Unterschiedliche Mengen des mit Stannoionen beladenen ED3A-CPG-550 wurden mit unterschiedlichen Mengen menschlichem Serumalbumin in Anwesenheit von Tc-99m-Per technetat (~ 10 mCi) in 1,5 ml Lösung 15 Minuten zur Bestimmung der von dem Reduktionsmaterial adsorbierten Technetiummenge gemischt. Die folgende Tabelle zeigt die Ergebnisse:

Menge des durch das Reduktionsmaterial adsorbierten ^{99m} Tc		
Reduktionsmaterial	menschliches Serumalbumin, mg	% Tc an dem Reduktionsmaterial
100	1	84
20	1	70
5	1	30
1	1	14
0,5	1	10
20	20	8
20	10	20
20	5	30
20	1	70

Beispiel 8

ED3A-CPG-550 Perlen wurden nach dem Verfahren von Beispiel 1 mit Stannoionen beladen. Unterschiedliche Mengen des mit Stannoionen beladenen ED3A-CPG-550 wurden mit unterschiedlichen Mengen N-(2,6-Diisopropylphenylcarbamoylmethyl)-iminodiessigsäure (PRIDA) in Anwesenheit

von Tc-99m-Perotechnetat (~ 10 mCi) in 1,5 ml Lösung 15 Minuten zur Bestimmung der Menge an Sn in dem Produkt, bezogen auf die ursprünglich auf dem Reduktionsmaterial anwesende Menge Sn, gemischt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle angegeben:

Sn im Produkt bei der Markierung von PRIDA

Reduktionsmaterial Sn(II)-ED3A-CPG-550, mg	PRIDA, mg	% Sn im Produkt	SnCl ₂ ·2H ₂ O im Produkt, µg/ml
1	1	10	0,4
	20	55	2,1
20	1	7	3,2
	20	57	21

Beispiel 9

Die gleichen Versuche wie in Beispiel 8 wurden durchgeführt, wobei jedoch als zu markierender Ligand menschl-

ches Serumalbumin (MSA) verwendet wurde. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle angegeben:

Sn im Produkt bei der Markierung von MSA

Reduktionsmaterial Sn(II)-ED3A-CPG-550, mg	MSA, mg	% Sn im Produkt	SnCl ₂ ·2H ₂ O im Produkt, µg/ml
0,5	1,0	5	0,4
20,0	1,0	2	2,7

35

40

45

50

55

60

65