

$^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ 的制备及色层分析研究

王凡 金小海 刘跃民 杜进
赵秀岩 陈大明 白素珍

(中国原子能科学研究院同位素研究所, 北京 102413)

介绍 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ 的制备工艺,重点研究由Sephadex G-75和国产717型阴离子交换树脂组成的复合柱进行放化纯度分析的方法。用高压液相色谱对原料、纯化前后的 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ 作UV吸收和对应放射性峰比分析。实验结果表明,HPLC色谱图与文献引用的 $^{99}\text{Tc}\text{-HEDP}$ 、 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ 的HPLC色谱图基本一致,产品中杂质含量远比文献中的同类产品要少。原来采用的生理盐水和丙酮纸色层分析体系并不能进行放化纯度的分析测定,尤其是在还原不充分、标记率不高的情况下。而复合柱色层却能快速、简便地进行放化纯度的测定,并能对产品进行纯化。经动物实验证明,纯化的 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ 在动物体内分布较理想,小鼠的甲状腺、肝等器官的吸收比未经纯化的 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ 明显减少。

关键词 骨肿瘤 ^{186}Re HEDP 色层分析 高压液相色谱

乳腺癌或前列腺癌诱发的骨转移癌最为普遍^[1]。这些转移癌的最主要的临床反映就是致命的疼痛。以往常采用外辐射治疗,但是由于病灶常常是全身性的扩散,外束放疗难于达到预期的效果^[2,3]。以前也采用过一些趋骨性的放射性核素进行治疗,但最终也没有被临床广为接受^[4]。 ^{32}P 的正磷酸盐是最早,也是最广泛采纳的骨转移癌疼痛缓解治疗的核素之一^[5],但是由于产生麻烦的骨髓抑制,因此有人建议淘汰它在临床上的应用。 ^{89}Sr 对患前列腺、乳腺癌引发的骨转移癌有较好的治疗响应^[6],不过这个核素的半寿命太长(50 d),而且没有适合给药后供 γ 相机和ECT显像的 γ 射线。

近年来, $^{153}\text{Sm}\text{-EDTMP}$ ^[7]已被很多人确认,在临床上有着明显的缓解骨转移癌疼痛的治疗效果,是目前比较理想的用于骨转移癌治疗的放射性药物之一^[8-11]。但有一个缺点是半衰期(46 h)略短一些。 ^{186}Re 与 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 在元素周期表中属同族元素,有着相似的化学性质。由于 ^{186}Re 半衰期为90.64 h, β^- 能量适中,1.07 MeV(77%),0.934 MeV(23%),并且发射类似于 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 140 KeV的 γ 射线(137 KeV,9%),适合于常规诊断显象,便于临床医生对吸收剂量的估算和治疗效果的评价。同时由于物理半衰期较短,患者在一定时间间隔内可重复用药治疗。 $^{186}\text{Re}\text{-HEDP}$ 可以高度浓集于病灶,对癌细胞起有效的杀伤作用^[12-15]。为此我们制备 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ 并对 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ 的色层行为进行研究。

收稿日期:1994-06-30 修改稿收到日期:1995-02-01

1 实验方法

1.1 试剂和仪器

1.1.1 试剂 HEDP(北京防化学院提供);氯化亚锡(AR,北京市红星化工厂);抗坏血酸(Vc)(北京化工厂);葡聚糖凝胶 G-75(上海化学试剂厂);阴离子交换树脂 717 型(长春);DEAE(美国 SIGMA 公司);生理盐水(天津);丙酮、HCl、NaAc(AR,北京化工厂);金属铼粉(北京有色金属研究院)。

1.1.2 仪器 高纯锗 γ 能谱仪(美国 ORTEC 公司); β^- 能谱仪 LS-5801(美国 BECKMAN 公司);放射性活度计 RM-905(中国计量科学研究院);定标器 FH-408(北京综合仪器厂);放射性纸色层扫描仪 LB-2722(西德);电子天平 MD110-2(上海天平厂);井型电离室 FT-603(北京综合仪器厂);高压液相色谱仪(WATERS 公司)。

1.2 实验方法

(1)金属 Re 的照射:称取光谱纯的金属铼粉 20 mg 密封于石英瓶中($\Phi 4\text{ mm}\times 35\text{ mm}$),外用铝箔包紧装于外照射筒中($\Phi 6\text{ mm}\times 60\text{ mm}$),中子注量率 $\varphi=7\times 10^{13}-8\times 10^{13}/\text{cm}^2\cdot\text{s}$,照 7—10 d,比活度为 2 900—3 700 MBq/mg。

(2) β^- 、 γ 谱分析:经 LS-5801 液体闪烁谱仪和 4096 道 Ge(Li)多道 γ 谱分析,表明除了有痕量的 ^{186}Re 外,没发现有明显的 γ 、 β^- 杂质。

(3) $\text{H}^{186}\text{ReO}_4$ 的制备:将照射的靶物倒入溶解用烧瓶中,加 2—4 ml H_2O_2 (30%),稍加热即可以产生明显的化学反应。反应完以后,继续加热至近干,立即离开热电炉,防止产生青紫色烟雾。待冷却后加入 5 ml 去离子水,稍回流,经 0.22 μm 灭菌漏斗过滤备用。

(4) SnCl_2 溶液的配制:称取 400 mg $\text{SnCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 加入 0.5 ml 浓 HCl,稍加热至澄清。再加入去离子水,配制浓度为 50 mg/ml。

(5) $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ 的制备:取 1 ml HEDP 溶液(75 mg/ml)于青霉素瓶中,加入 0.5 ml $\text{SnCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (50 mg/ml),轻轻摇晃。再加入 0.5 ml Vc(50 mg/ml)。之后经 0.22 μm 灭菌漏斗过滤。加入 125 μl $\text{H}^{186}\text{ReO}_4$ 溶液,压盖密封,100 $^\circ\text{C}$ 水浴反应 15—20 min。降至常温之后,用 1 mol/l NaAc 调 pH 到 5—6。

(6)丙酮、生理盐水体系的纸层分析:Whatman 3MM 色层纸,长 15 cm,宽 1.5 cm,在原点点样,用两种试剂分别展开,展开长度 12 cm。

(7)Sephadex G-75 的预处理:每克干凝胶 50—120 目的床容积为 10—15 ml,预先用去离子水浸泡过夜,反复漂洗几次,放置备用。

(8)国产 717 型阴离子交换树脂预处理:80—120 目干树脂,预先用去离子水浸泡 24 h,经漂洗后用 1 mol/l HCl 浸泡 8 h,洗至中性备用。

(9)717 型阴离子交换柱的制备:取 5ml 注射器,底部垫 $\Phi 1.3\text{ cm}$ 滤纸片,取(8)预处理好的树脂,装 0.5 ml(约 0.4 g 干树脂),上层再垫好 $\Phi 1.3\text{ cm}$ 滤纸片,用去离子水洗至中性备用。

(10)国产 717 型阴离子交换树脂交换容量的测定:稳定的 HReO_4 (金属 Re 1 g)制备同 $\text{H}^{186}\text{ReO}_4$,加入约 74 MBq $^{186}\text{Re}(\text{H}^{186}\text{ReO}_4)$,稀释至 50 ml。将溶液逐滴加入按(9)准备的柱子的上层,以 1 ml/min 流速收集(1 ml/份),连续收集 10 ml,仍没发现有任何放射性漏穿,所以 1 g 717 型干树脂的 ReO_4^- 交换容量至少应(折合金属铼)大于 80 mg。

(11)DEAE(Diethylaminoethyl)预处理同(8)。

(12)DEAE 色层柱制备:同(9),装入 1 g 经预处理的 DEAE(在 5 ml 注射器中填充约 4.5

ml)。

(13)Sephadex G-75 柱制备： $\Phi 0.6\text{ cm} \times 40\text{ cm}$ 柱子，具体操作同(9)。装柱时，湿法逐管加入，注意防止有密实不均现象。用 $\text{pH}=3$ 的水溶液处理，去离子水洗至中性，用 0.003 mol/l Vc洗柱，加入 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ $25\ \mu\text{l}$ (370 kBq)，流速为 0.5 ml/min ，最后用 0.85 mol/l NaAc + 0.03 mol/l Vc + 0.1 mol/l NaCl 混合液(其中各组分浓度为占总体积的量，下同)淋洗，并测量放射性，绘制放射性淋洗曲线。

(14)Sephadex G-75+717 型树脂的复合柱制备(图 1)。

(15)高压液相色谱：Sperisorb 阴离子交换柱($\Phi 5\text{ mm} \times 300\text{ mm}$)，检测波长 254 nm ，灵敏度为 0.02 ，流动相 0.85 mol/l NaAc + $2.8 \times 10^{-4}\text{ mol/l}$ Vc，流通池体积 $30\ \mu\text{l}$ ，流速 1.2 ml/min ，用 UV 检测器和放射性探测器同时监测。

(16)动物实验： $18\text{--}20\text{ g}$ 雄性昆明小白鼠，分别注射经复合柱纯化前后的 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ 0.555 MBq ($15\ \mu\text{Ci}$)，每组 3 只，在不同时间处死，取其重要脏器进行测量分析。四只大白兔分别注射纯化后的 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ 185 MBq (5 mCi)，在注射后 3 h 、 24 h 进行 ECT 显像。

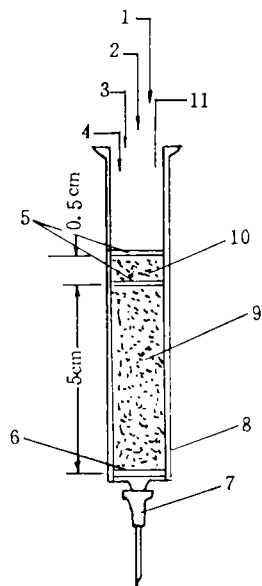


图 1 Sephadex G-75+717⁺树脂复合柱
1—— 0.85 mol/l NaAc + $3 \times 10^{-4}\text{ mol/l}$ Vc；
2—— $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ ；3—— 0.03 mol/l Vc 洗；
4—— 1 mol/l HCl；5——Whatman No. 1 纸片；
6——Whatman No. 1 纸片；7——注射器针头；
8—— 5 ml 注射器；9——Sephadex G-75；
10——717 型阴离子交换树脂；11——水洗中性

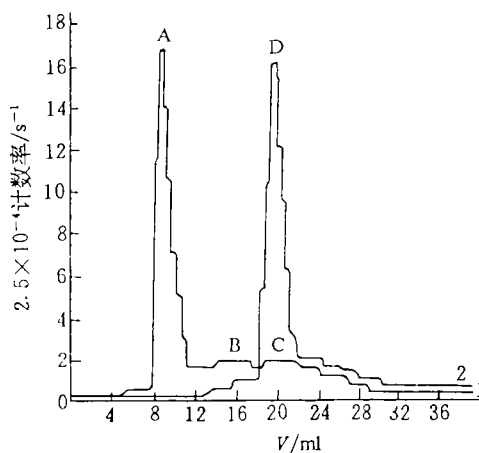


图 2 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ 、 $^{186}\text{ReO}_4^-$ 的 Sephadex G-75 色层柱淋洗曲线
A—— $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ ；B—— $^{186}\text{Re}(\text{IV})$ ；
C—— $^{186}\text{ReO}_4^-$ ；D—— $^{186}\text{ReO}_4^-$ ；
1—— $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ ；2—— $^{186}\text{ReO}_4^-$

2 实验结果

2.1 丙酮、生理盐水纸层展开体系分析(表 1)

表 1 丙酮、生理盐水展开体系分析结果(R_f 值)

展开剂	高价 Re	低价 Re	络合物
丙酮	0.9—1.0	0	0
生理盐水	0.9—1.0	0	0.9—1.0

2.2 Sephadex G-75 柱层析分析结果(图 2)

2.3 DEAE 柱层析分析结果

实验方法(12)制备的 DEAE 色层柱，用 1 mol/l HCl 活化，然后水洗至中性， 10 ml 0.003 mol/l Vc 过柱。加样 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ ，用 0.003 mol/l Vc + 0.01 mol/l HEDP + 0.15 mol/l NaCl 混合液淋洗，发现树脂上无任何放射性保留。同

$^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ ，用 0.003 mol/l Vc + 0.01 mol/l HEDP + 0.15 mol/l NaCl 混合液淋洗，发现树脂上无任何放射性保留。同

样条件下,对稀释的 $\text{H}^{186}\text{ReO}_4$ 进行淋洗, $\text{H}^{186}\text{ReO}_4$ 也被淋洗下来。

2.4 国产 717 型阴离子交换柱分析结果

实验方法(9)制备的阴离子交换柱,用 0.03 mol/l Vc 洗柱后,加入 $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$,用 0.85 mol/l NaAc+ 3×10^{-4} mol/l Vc 混合液淋洗,结果示于图 3。

2.5 Sephadex G-75+717 型阴离子交换树脂复合柱分析结果(表 2)

表 2 Sephadex G-75+717 型阴离子交换树脂复合柱分析结果 %

No	收集淋洗液 10ml	717 树脂保留	Sephadex G-75 保留	标记率 %
1	98.6	1.2	0.2	98.6
2	98.3	1.5	0.2	98.3
3	99.2	0.6	0.2	99.2

2.6 高压液相色谱分析结果

产品经 Sephadex G-75+717 阴离子交换树脂复合柱纯化,UV 鉴定和 UV+放射性鉴定谱示于图 4。

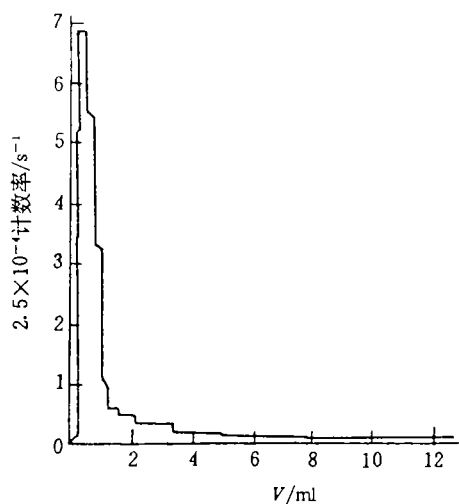


图 3 717 型阴离子交换层柱淋洗曲线

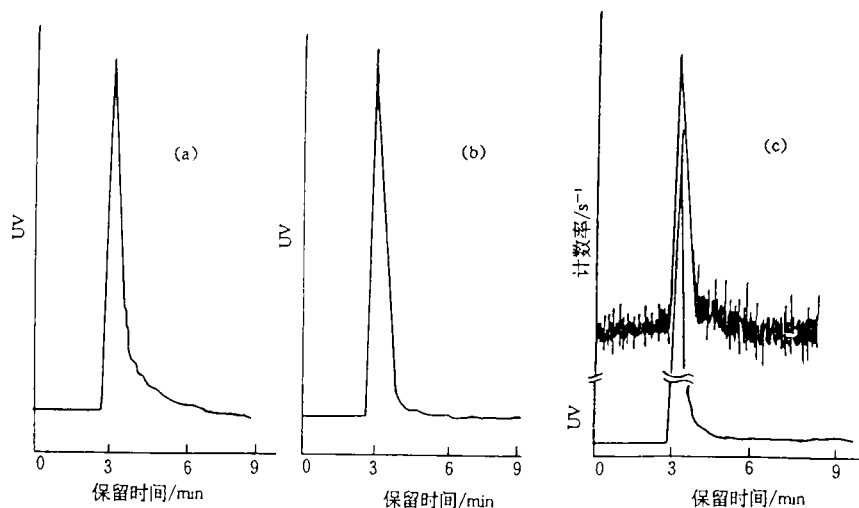


图 4 产品的 HPLC 分析
(a)——未纯化;(b)——纯化;(c)——纯化

2.7 动物实验结果

动物实验结果列于表3、4,显像图示于图5。

表3 未经复合柱纯化的结果($n=3, \bar{x} \pm SD$) % ID · g⁻¹(组织)

组织	时间/h						
	0.5	1	2	3	5	24	48
血	1.34±0.80	1.17±0.50	0.84±0.10	0.76±0.08	0.43±0.08	0.08±0.01	0.03±0.01
心	0.92±0.31	0.86±0.25	0.62±0.21	0.48±0.16	0.32±0.15	0.11±0.06	0.07±0.01
肝	0.63±0.20	0.54±0.18	0.53±0.15	0.40±0.14	0.35±0.10	0.15±0.09	0.09±0.02
脾	0.60±0.21	0.51±0.20	0.40±0.18	0.35±0.15	0.22±0.11	0.10±0.07	0.06±0.02
肺	0.74±0.44	0.61±0.41	0.54±0.35	0.41±0.29	0.33±0.18	0.07±0.02	0.04±0.01
肾	3.21±1.01	2.24±0.97	1.89±0.86	1.56±0.73	1.3±0.54	0.89±0.33	0.45±0.31
肠	0.88±0.31	0.69±0.30	0.48±0.27	0.33±0.21	0.31±0.20	0.11±0.07	0.03±0.01
甲状腺	5.55±1.12	4.54±1.09	4.14±0.98	3.97±0.88	3.18±0.80	1.21±0.50	0.91±0.10
骨	10.33±1.14	14.73±2.08	17.44±2.26	21.89±3.05	19.11±2.53	11.64±1.05	9.85±0.97
肌	0.97±0.43	0.64±0.38	0.34±0.21	0.25±0.18	0.15±0.10	0.07±0.01	0.03±0.00

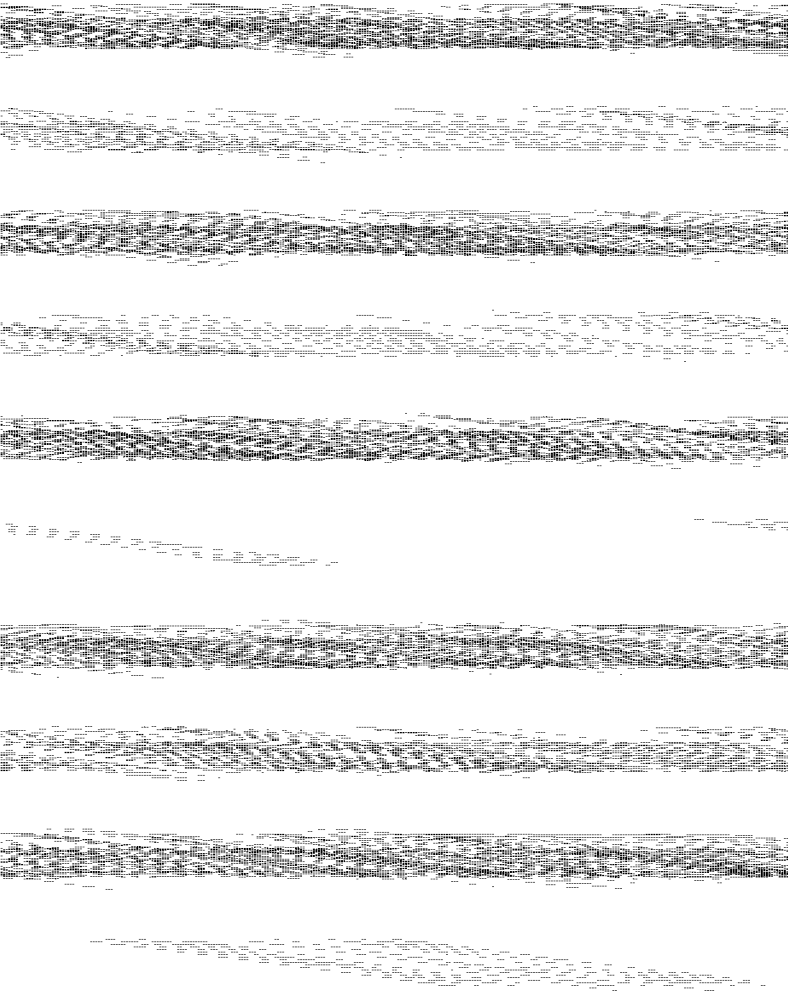
表4 经复合柱纯化的结果($n=3, \bar{x} \pm SD$) % ID · g⁻¹(组织)

组织	时间/h				
	1	3	4	24	48
血	1.23±0.70	0.68±0.10	0.57±0.08	0.06±0.01	0.03±0.01
心	0.43±0.22	0.32±0.18	0.24±0.12	0.06±0.02	0.03±0.01
肝	0.44±0.20	0.30±0.17	0.25±0.11	0.08±0.02	0.06±0.01
脾	0.36±0.21	0.29±0.16	0.22±0.10	0.08±0.03	0.06±0.01
肺	0.55±0.27	0.29±0.11	0.23±0.06	0.07±0.01	0.04±0.01
肾	2.87±0.94	1.82±0.80	1.79±0.76	0.80±0.10	0.45±0.08
肠	0.77±0.24	0.61±0.22	0.60±0.21	0.10±0.03	0.03±0.01
甲状腺	3.90±0.96	3.75±0.90	3.20±0.73	0.76±0.07	0.66±0.05
骨	14.51±1.83	26.75±2.33	19.81±1.06	11.77±0.98	10.46±0.90
肌	0.48±0.23	0.24±0.16	0.20±0.11	0.05±0.01	0.03±0.00

3 讨论

由表1的丙酮、生理盐水展开体系分析计算的标记率与其它分析方法得到的标记率相一致。但在还原不充分、标记率低的情况下,纸层展开体系分析测得的标记率仍达到95%以上。而在相同条件下,717型阴离子交换树脂上有大量高价铼被吸附,说明标记率很低。因此我们认为此展开体系给出的信息不够准确,不能进行严格的放化纯度分析。

从图2 Sephadex G-75柱的淋洗曲线看,严格说并不能完全分离¹⁸⁶Re(Sn)-HEDP、低价Re和高价Re,因为峰与峰之间已有重叠,特别是游离的¹⁸⁶ReO₄⁻与低价Re重叠较大。



- 9 Zonnenberg BA, de Klerk JMH, Van Rijk P, et al. $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ for Treatment of Painful Bone Metastases in Patients With Metastatic Prostate or Breast Cancer, Preliminary Result [Abstract]. *J Nucl Med*, 1991, 32:1082.
- 10 Maxon HR, Schroder LE, Thomas SR, et al. $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ for Treatment of Painful Osseous Metastasis; Initial Clinical Experience in 20 Patients With Hormone-resistant Prostate Cancer. *Radiology*, 1990, 176:155.
- 11 Maxon HR, Schroder LE, Hertzberg VS, et al. $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ for Treatment of Painful Osseous Metastases. Results of a Double Blind Cross-over Comparison With Placebo. *J Nucl Med*, 1991, 32:1877.
- 12 Holford M. An Extended Least Squares Modelling Program (Version 3.13). Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology University of Auckland. Auckland, New Zealand. October 1986.
- 13 Gibaldi M, Perrier D, Pharmacokinetics. In: Gibaldi M, Perrier D, eds. *Pharmacokinetics*. Second Edition. New York: Marcel Dekker Inc, 1982:319.
- 14 Blake GM, Zivanovic MA, McEwan AJ, et al. ^{89}Sr Therapy; Strontium Kinetics in Disseminated Carcinoma of the Prostate. *Eur. J Nucl Med*, 1986, 12:447.
- 15 Roodt Aa, Libson K, Catler C, et al. Studies on the Mechanism of Action of $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$; a New Agent for the Treatment of Painful Skeletal Metastases [Abstract]. *J Nucl Med*, 1989, 30:732.

PREPARATION OF $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ AND THE COMPARATIVE ANALYSES OF CHROMATOGRAPHICAL METHODS

Wang Fan Jin Xiaohai Liu Yuemin Du Jin

Zhao Xiuyan Chen Daming Bai Suzhen

(Department of Radioisotope, China Institute of Atomic Energy, Beijing 102413)

ABSTRACT

The labeling technology of $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ is described, and a complex column (in Sephadex G-75 and 717[#] resin) chromatographic analysis method is studied. Meanwhile, the comparative analyses, on the UV absorption and radioactive determination of purified $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ and unpurified $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ are carried out by HPLC. The relative HPLC spectrums to be obtained are basically correspondent with the spectrums of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-HEDP}$, $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ quoted from reference, and contamination contents of our product are also less than that one. Experimental results demonstrate that double-paper strips chromatographic system are unapplicable to analysis radiochemical purity of labeled compounds especially for the situations of insufficient reduction of $^{186}\text{ReO}_4^-$ and low labeling rate. The complex column chromatographic system used for the determination of radiochemical purity is both simple and rapid. Animal experiments in rats indicate that the radioactive absorption of thyroid and liver for purified $^{186}\text{Re}(\text{Sn})\text{-HEDP}$ is obviously less than unpurified one.

Key words bone tumor Rhenium-186 HEDP chromatographical analysis HPLC