

文章编号:0253-9950(2008)04-0215-05

直接法制备 ^{188}Re -碘化油

王永青¹, 范我^{1,*}, 金泳海², 章斌²,
朱然¹, 俞泽阳¹

1. 苏州大学 放射医学与公共卫生学院, 苏州 215123;

2. 苏州大学 第一附属医院, 苏州 215006

摘要:探讨直接法制备 ^{188}Re -碘化油的实验条件及标记物性质。在温度为75~120℃和不同实验条件下,直接标记法制备 ^{188}Re -碘化油,观测标记物标记率在室温和37℃人血浆体系中随时间的变化情况;采用红外光谱仪分析标记对碘化油分子结构的影响;用肿瘤模型动物显像验证碘油对 ^{188}Re 的包埋效果,以及在生物体内的稳定性半定量分析。直接法制备 ^{188}Re -碘化油,在最佳标记条件下,标记物标记率可达(99.1±0.4)%;标记物在室温和37℃人血浆体系中放置3d,标记率可保持在(90.9±1.9)%和(92.8±1.2)%。红外光谱结果显示本标记方法不改变碘化油的分子结构;荷S180骨肉瘤鼠显像表明,瘤内注射标记物48h后,肿瘤部位仍有明显的放射性浓聚。 ^{188}Re 直接标记碘化油易于操作,标记物标记率高,体外稳定性好,碘油对放射性核素铼的包裹效果良好。

关键词:碘化油; ^{188}Re ;放射性标记;显像

中图分类号:R817 **文献标志码:**A

Preparation of ^{188}Re -Lipiodol With Directly Radiolabeling Method

WANG Yong-qing¹, FAN Wo^{1,*}, JIN Yong-hai², ZHANG Bin²,
ZHU Ran¹, YU Ze-yang¹

1. School of Radiation Medicine and Public Health, Suzhou University, Suzhou 215123, China;

2. The First Hospital Affiliated to Suzhou University, Suzhou 215006, China

Abstract: The aim of this study is to explore the method of radiolabeling lipiodol with ^{188}Re and to appraise the quality of the product. Lipiodol was labeled with ^{188}Re directly at the temperatures from 75℃ to 120℃ with different reaction conditions. The time-variation labeling efficiency was measured to evaluate the stability of ^{188}Re -lipiodol. The molecular structure change caused by radiolabeling was analyzed with infrared spectrometer. The embedding effect of lipiodol was explored by SPECT imaging of bearing cancer S180 mice. The optimal condition was obtained with the labeling efficiency over (99.1±0.4)%. More than (90.9±1.9)% and (92.8±1.2)% of radioactivity was kept in lipiodol form in room temperature and in 37℃ human plasma for 3 d. Infrared spectrum imaging shows that the molecular structure of radiolabeled lipiodol is unchanged. SPECT imaging of S180 tumor-bearing mice testifies the radioac-

收稿日期:2007-10-27;修订日期:2008-03-17

作者简介:王永青(1981—),女,山东烟台人,硕士研究生,放射医学专业

* 为通讯作者

tivity concentrated in tumor for 48 h after injection of ^{188}Re -lipiodol. The directly radiolabeling method is easy to operate, and the labeling efficiency is higher than $(99.1 \pm 0.4)\%$. The radio-labeled product is stable for 72 h, and the embedding effect of lipiodol to ^{188}Re is well. ^{188}Re radiolabeled lipiodol can be used for further investigation.

Key words: lipiodol; ^{188}Re ; radiolabel; SPECT imaging

碘化油是一种含有脂肪酸乙脂的亚麻子油,经肝动脉注射后能较长时间滞留在肝肿瘤组织中并对肿瘤血管具有栓塞的作用^[1]。将放射性核素标记到碘化油上,使得放射性核素在肝肿瘤病灶内浓聚并发射 β 射线,进而达到栓塞肝肿瘤血管和杀伤肿瘤细胞的双重疗效,因此成为治疗难以手术切除的肝脏肿瘤的重要手段。文献[2]报道了采用 ^{188}Re -HDD(2, 2, 9, 9-四甲基-4, 7-二氮-4-正十六烷基-1, 10-二硫癸烷)碘化油溶液治疗原发性肝癌和转移肝癌是安全有效的,因此 ^{188}Re -碘化油可以成为通过介入途径治疗肿瘤的放射性药物。放射性核素 ^{188}Re 是近年来使用较广泛的治疗型核素,由 ^{188}W - ^{188}Re 发生器制备,具有优良的核性质,可发射 2.1 MeV 的 β 射线适用于治疗,同时发射 155 keV 的 γ 射线用于显像,可进行核素的生物学分布、辐射剂量及药代动力学研究^[3]。文献[4-6]报道的 ^{188}Re 标记碘化油的方法需采用络合剂将 ^{188}Re 和碘化油结合起来,文献[7]也报道先制备硫化铼胶体颗粒,除水后用碘化油与胶体颗粒混匀成油状的胶体,这 2 种方法制备过程都比较复杂,实验操作耗时长。本工作拟通过 ^{188}Re 直接标记碘油的方法制备 ^{188}Re -碘油,并初步观察其在小鼠体内的积聚情况,为 ^{188}Re -碘油通过介入途径治疗肿瘤提供依据。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

GC-1200 型 γ 放射免疫计数仪,中国科技大学中佳光电仪器公司;1000FT-IR 红外光谱仪,美国瓦里安技术中国有限公司;Axis 三探头符合线路 SPECT, 美国 Philips 公司;RM-905 型活度计,中国计量科学研究院;AW-80A 型漩涡混合器,上海琪特分析仪器有限公司。

^{188}Re 溶液产自 ^{188}W - ^{188}Re 发生器,由北京原子高科核技术应用股份有限公司组装;碘化油注射液,医用级,法国 Guerbet 公司;甲醇和无水乙醇,分析纯,上海试剂总厂;人血浆,苏州大学第一附属医院介入科提供;S180 骨肉瘤细胞株,苏州

大学基础医学系药理教研室馈赠;昆明小鼠,雌性,6 周龄,体重 (20 ± 5) g,由苏州大学动物中心提供。

1.2 实验方法

1.2.1 ^{188}Re -碘化油的制备 取放射性铼溶液 $(9.25 \text{ MBq}, 1 \text{ mL})$ 与 1 mL 的无水乙醇在小烧杯中混合,在 100°C 加热蒸发至干。将一定量的无水乙醇加入反应烧杯将白色沉淀溶解摇匀。加入 2~3 mL 的碘化油,在搅拌器上加热并搅拌,通过不同的加热时间和方法制备 ^{188}Re -碘油^[8]。冷却至室温,取适量标记物放入人血浆中,用漩涡混匀器混匀后置于 37°C 水浴中。测量室温下和 37°C 人血浆中标记率随时间的变化趋势。

1.2.2 ^{188}Re -碘化油标记率的测定 用纸层析方法,以新华一号层析纸为固定相,以 85% 甲醇为展开剂,展开后, ^{188}Re -碘油在起点,游离 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 的 R_f 值为 0.8。

1.2.3 放射性铼回收率的测定 分别测量初始加入的放射性铼活度 $(A_0(^{188}\text{Re}))$ 和标记碘油后的放射性铼活度 $(A(^{188}\text{Re}))$,放射性铼回收率 $R(^{188}\text{Re}) = A(^{188}\text{Re}) / A_0(^{188}\text{Re}) \times 100\%$ 。

1.2.4 碘化油的结构分析 采用红外光谱仪分别测定碘化油和 ^{188}Re -碘化油的红外光谱并进行对比,以此来观测标记铼对碘化油结构的影响。

1.2.5 S180 荷瘤鼠模型的建立 取动物体内传代的第三代 S180 腹水。用生理盐水调整细胞悬液细胞数为 $1 \times 10^7/\text{mL}$ 接种于小鼠右腋窝皮下,每只小鼠注射 0.1 mL,观察荷瘤鼠肿瘤直径约 1 cm 时,进行进一步实验研究。

1.2.6 ^{188}Re -碘化油在荷瘤鼠中的显像 取 6 只荷瘤鼠随机分成 2 组,一组瘤内注射 0.1 mL ^{188}Re -碘化油 (3.7 MBq) ,另一组瘤内注射 0.1 mL ^{188}Re 溶液 (3.7 MBq) ,于注射后 5, 30 min 和 1, 2, 24, 48 h 分别做 SPECT 平面显像,采集矩阵 256×256 ,放大系数 1.6,采集时间 30 min。验证碘化油对 ^{188}Re 的包埋效果,以及在生物体内的稳定性半定量分析。

2 结果和讨论

2.1 ¹⁸⁸Re 的碘油标记

采用直接法制备¹⁸⁸Re-碘化油,反应条件对结果的影响列于表 1。由表 1 可知,混合碘油时的

反应温度(θ)对标记率(Y)的影响最大。当反应温度为 120 ℃、反应时间为 20 min、标记物冷却到室温(25 ℃)时,标记物的标记率可达(99.1±0.2)%。

表 1 反应条件对¹⁸⁸Re 标记碘油的影响
Table 1 Effect of reaction condition on ¹⁸⁸Re radiolabeling lipiodol

No.	V(EtOH)/ mL	混合碘油(Mix lipiodol)			Y/%	标记物(Radiolabeled product)	
		$\theta/^\circ\text{C}$	$t_{\text{heat}}/\text{min}$	搅拌时间(Stirring time)/min		外观(Appearance)	稳定性 (Stability)
1	1	75	20	20	0	同碘油(The same to lipiodol)	-
2	2	75	20	20	0	同碘油(The same to lipiodol)	-
3	1	95	20	20	0	同碘油(The same to lipiodol)	-
4	1	95	120	20	90.1±0.6	颜色变深(The color becomes darker)	稳定(Stable)
5	3	120	20	20	92.3±0.7	颜色变深(The color becomes darker)	不稳定 ²⁾ (Unstable)
6	1	120	20	20	85.0~99.1 ¹⁾	颜色变深(The color becomes darker)	-
7	1	120	20	10	99.1±0.2	颜色变深(The color becomes darker)	稳定(Stable)

注(Note):1) 标记率不均匀(The labeling efficiency is not uniform);
2) 标记率随时间下降较快(The labeling efficiency descends quickly)

2.2 标记产物的稳定性

将标记物分别放在室温下和 37 ℃人血浆中用漩涡混合器混匀放置,标记率(Y)随时间的变化结果示于图 1。由图 1 可知,标记物在室温下放置 36 h,游离放射性铈的含量无明显增加,标记物稳定。而此时,半衰期为 16.9 h 的¹⁸⁸Re 已大部分衰变掉。标记物在 37 ℃血浆中放置 36 h,游离放射性铈的量无明显增加,表明标记物在人血浆中的稳定性良好。室温下的标记率在 6 h 内下降较快,可能是实验时室温较低,将刚制备的标记物(约 120 ℃)放置于室温下,由于温度骤降导致部分标记上的¹⁸⁸Re 由于环境温度下降过快而脱落。这说明储存标记物的环境温度对标记物标记率有影响,放置于 37 ℃人血浆中的标记物稳定性更高,也有利于¹⁸⁸Re 应用于生物体内。

2.3 碘化油和¹⁸⁸Re-碘化油的红外光谱

碘化油和¹⁸⁸Re-碘化油的红外光谱示于图 2, 3。由图 2, 3 比较可知,放射性铈标记后碘化油的分子结构并未改变。

2.4 反应温度对标记率和回收率的影响

反应温度对标记物标记率(Y)和放射性回收率(R)的影响列入表 2。由表 2 可知,铈的回收率在反应温度为 75 ℃和 95 ℃时差异不大,但随着

反应温度的升高回收率有下降的趋势,而标记物的标记率则随反应温度的升高而升高。在反应温度为 95 ℃时,铈的回收率即反应后反应体系的放射性活度占初始加入的放射性铈溶液的放射性活度的百分比为(90.65±0.16)%,而标记物标记率为 0,从纸层析结果来看,此时的¹⁸⁸Re 均以游离的¹⁸⁸ReO₄⁻形式存在于反应体系中,而未回收的放射性铈随蒸气挥发掉。

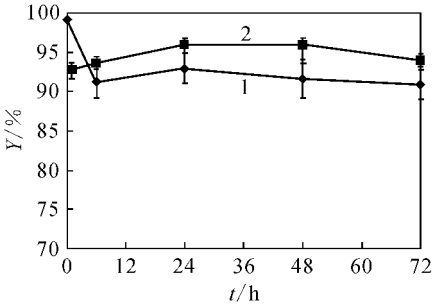


图 1 放置介质和时间对标记率的影响
Fig. 1 Effect of the medium and standing time on the labeling efficiency
1——室温放置(Standing at room temperature),
2——37 ℃血浆(Standing in 37 ℃ blood plasma)

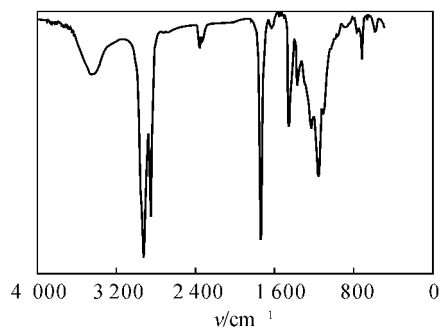


图 2 碘化油的红外吸收光谱

Fig. 2 Infrared absorption spectrum of lipiodol

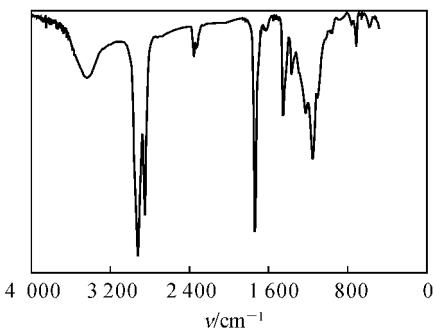


图 3 ¹⁸⁸Re-碘化油的红外吸收光谱

Fig. 3 Infrared absorption spectrum of ¹⁸⁸Re-lipiodol

表 2 反应温度对标记率和回收率的影响

Table 2 Effect of reaction temperature on labeling efficiency and recovery rate

$\theta/^{\circ}\text{C}$	$R/\%$	$Y/\%$
75	89.23 ± 0.23	0
95	90.65 ± 0.16	0
110	81.72 ± 0.75	75.3 ± 0.5
120	75.67 ± 0.45	99.1 ± 0.2

注(Notes): 加热时间均为 20 min(Warm-up time is 20 min)

2.5 ¹⁸⁸Re-碘化油在荷瘤鼠中的显像

¹⁸⁸Re-碘化油在荷瘤鼠中的显像结果示于图 4, 游离铼在荷瘤鼠中的显像结果示于图 5。由图 4, 5 看出, 在注射¹⁸⁸Re-碘化油后 48 h 内放射性浓聚于肿瘤组织, 而游离铼组在注射后 1 h 时在肿瘤部位及肾脏部位有明显的放射性浓聚, 24 h 时放射性已不明显。¹⁸⁸Re-碘化油在荷瘤鼠中的每克组织百分注射剂量率数据显示碘化油对¹⁸⁸Re 的包埋效果良好^[9]。

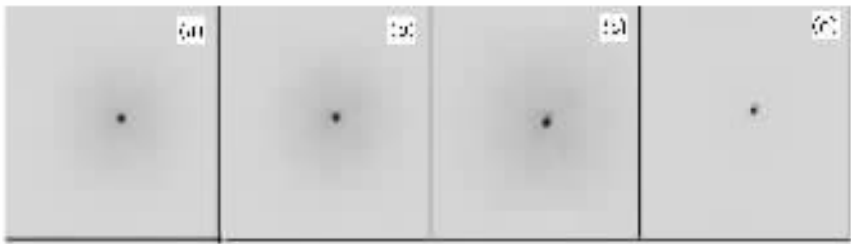


图 4 荷瘤鼠注射¹⁸⁸Re-碘化油后不同时间的 SPECT 显像

Fig. 4 SPECT imaging of a tumor-bearing mouse at different time after injection of ¹⁸⁸Re-lipiodol
(a)——5 min, (b)——2 h, (c)——24 h, (d)——48 h

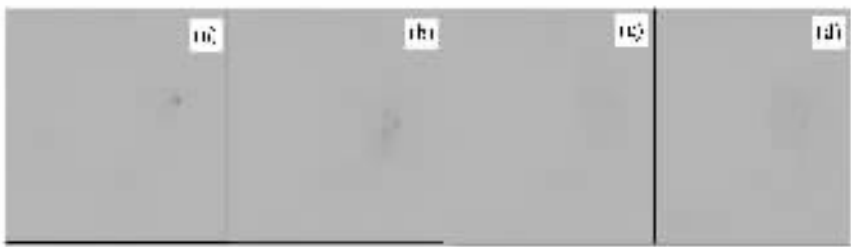


图 5 荷瘤鼠注射¹⁸⁸ReO₄⁻ 后不同时间的 SPECT 显像

Fig. 5 SPECT imaging of a tumor-bearing mouse at different time after injection of ¹⁸⁸ReO₄⁻ solution
(a)——5 min, (b)——2 h, (c)——24 h, (d)——48 h

2.6 讨论

本研究采用一种新的标记方式,直接用 ^{188}Re 标记碘化油,我们推测其标记原理有可能是 ReO_4^- 与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4^-$ 相似,与 I^- 都是一价负离子,容易直接置换碘化油中少量 I^- 而被标记到碘化油上,也有可能是 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 以离子对的形式被含有微量乙醇-水的碘化油萃取,或者被包埋在油包水的胶束中;这还有待于进一步研究。标记时碘化油颜色变深,说明游离碘有少量析出,但并不改变碘化油的分子结构。实验过程中混合碘化油时搅拌时间过长可使部分放射性 ^{188}Re 脱落,搅拌时间10 min测得标记物标记率较稳定;溶解 ^{188}Re 蒸干物时如果加入过多无水乙醇会导致标记物标记率不稳定,当在室温下放置12 h后标记物标记率会大幅度下降。而加入1 mL无水乙醇溶解蒸干物,标记物标记率保持72 h,游离放射性 ^{188}Re 含量无明显增加。本实验最佳条件:将放射性的 ^{188}Re 溶液和无水乙醇蒸干后,加1 mL无水乙醇溶解晶体,加碘化油后搅拌加热,反应的最佳温度为120℃,标记率可达 $(99.1 \pm 0.2)\%$,且聚集在肿瘤部位的时间较长,有利于射线对肿瘤细胞的杀伤。

本实验通过瘤内注射 ^{188}Re -碘油的目的是想找一个比较接近介入给药的途径。目前已做了家兔介入实验, ^{188}Re -碘油在家兔肝肿瘤中的积聚比较理想^[10]。进一步的实验还在进行中。

所用 ^{188}Re 和碘化油均为医用级产品,在严格消毒、灭菌的条件下操作,完全可以用于人体。当然,在临床试验前还须按介入药物指标进行检测后方可使用。

3 结论

采用直接法制备 ^{188}Re -碘化油,在最佳实验条件下,标记物的标记率高达 $(99.1 \pm 0.2)\%$;标记

物稳定;制备操作简单,便于临床应用,有望成为治疗失去手术机会的实体性恶性肿瘤如肝癌的放射性药物。

参考文献:

- [1] 蒋小良,牟培源,何千舸,等. ^{90}Y 的碘油萃取标记[J].同位素,2006,19(2):79-82.
- [2] Lambert B, Bacher K, De Kukeleire K, et al. ^{188}Re -HDD/Lipiodol for Treatment of Hepatocellular Carcinoma: A Feasibility Study in Patients With Advanced Cirrhosis [J]. J Nucl Med, 2005, 46(8): 1 326-1 332.
- [3] 赵燕凌,陈跃. ^{188}Re 标记放射性药物研究进展[J].医学综述,2006,12(14):879-882.
- [4] Wang S J, Lo T Y, Hsieh B T, et al. A New Technique for Labeling of Lipiodol With ^{188}Re in the Treatment of Hepatic Tumor [J]. Radio Anal Nucl Chem, 2004, 261(1): 189-193.
- [5] Yu J F, Urs O H, Mark S, et al. ^{90}Y -Oxine - Ethiodol, a Potential Radiopharmaceutical for the Treatment of Liver Cancer [J]. Appl Sci Res, 2003, 58: 567-573.
- [6] 王文进,罗顺忠,何佳恒,等. ^{188}Re -NEMMPTDD的制备及生物分布研究[J].核化学与放射化学,2005,27(1):57-60.
- [7] 施乐华,张致峰,庄道玲,等.新型介入放射药物 ^{186}Re 碘化油的制备及其体内定位研究[J].第二军医大学学报,2003,24(8):881-883.
- [8] 杜进,金小海,陈大明,等. ^{125}I -碘化油的研制[J].同位素,1995,8(2):71-75.
- [9] 王永青.直接法制备 ^{188}Re -碘化油及其对荷S180骨肉瘤小鼠治疗的实验研究[D].苏州:苏州大学放射医学与公共卫生学院,2008.
- [10] 金泳海. ^{188}Re 标记药物血管内给药对兔VX2肝肿瘤模型的治疗前研究[D].苏州:苏州大学第一附属医院,2008.