



CN9702086

CNIC-01152

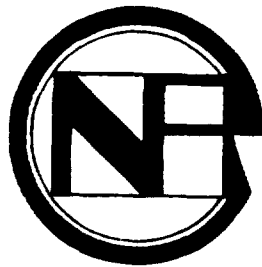
IAE-0164

中国核科技报告

CHINA NUCLEAR SCIENCE AND TECHNOLOGY REPORT

分光光度法测定¹⁸FDG 中的氨基聚醚(2. 2. 2)

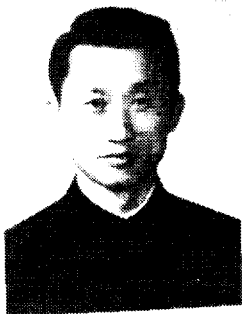
SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION
OF CRYPTAND (2. 2. 2) IN ¹⁸FDG
(*In Chinese*)



中国核情报中心
原子能出版社

China Nuclear Information Centre
Atomic Energy Press

VOL 28 № 22



赵贵植：中国原子能科学研究院副研究员，
1964年毕业于复旦大学化学系。

ZHAO Guizhi, Associate professor of China
Institute of Atomic Energy. Graduated from
Chemical Department of Fudan University in
1964.

CNIC-01152

IAE-0164

分光光度法测定 ^{18}F FDG 中的氨基聚醚(2.2.2)

赵贵植 龙卫忠 李大康 王翌善

(中国原子能科学研究院,北京)

摘 要

氨基聚醚(2.2.2)在 pH 6.4 的柠檬酸-氢氧化钠缓冲液介质中与 Pb(II)形成稳定的络合物。此络合物在波长 253 nm 有最大吸收,显色后,其吸光度立即达到最大,显色稳定,重现性好,可以用于紫外分光光度法测定 PET(Positron Emission Tomography)药物 ^{18}F FDG 产品中的微量氨基聚醚(2.2.2)。标准曲线 20~100 μg 氨基聚醚(2.2.2)与吸光度读数的线性相关系数大于 0.999,络合物摩尔吸光系数为 $6.4 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。5~10 μg 氨基聚醚(2.2.2)的测定相对标准偏差为 $\pm 10\% \sim \pm 15\%$ 。方法的检出限为 1~2 μg 。方法步骤简单、快速,20 分钟之内可以完成 ^{18}F FDG 产品三个平行样品的质量控制分析。

**Spectrophotometric Determination
of Cryptand (2. 2. 2) in ¹⁸FDG**
(*In Chinese*)

ZHAO Guizhi LONG Weizhong LI Dakang WANG Yishan
(China Institute of Atomic Energy, Beijing)

ABSTRACT

Cryptand kryptofix 2. 2. 2 forms stable complex with lead (II) in the citric acid-NaOH media of pH 6. 4. The lead cryptate, absorbance coming to maximum immediately after being developed, having the peak absorption at 253 nm, with stable colour and good reproducibility, is suitable for the determination of micro-cryptand (2. 2. 2) in ¹⁸FDG product by UV-spectrophotometry. The linear correlation coefficient of calibration 20~100 μg cryptand (2. 2. 2) and absorbance is more than 0. 999. The relative standard deviation for the determination of 5~10 μg cryptand (2. 2. 2) is ±10%~±15%. The detection limit is 1~2 μg. The procedure is simple and speedy. The QC analysis of three parallel ¹⁸FDG samples can be completed within 20 min.

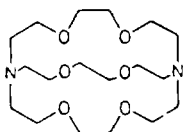
前 言

2-(^{18}F)氟-2-脱氧-右旋葡萄糖(^{18}FDG)是应用最多的 PET(Positron Emission Tomography, 正电子放射层面显像)药物。主要用于测定肿瘤、心脏,特别是处于各种疾病状态的脑的葡萄糖代谢,从而对肿瘤的良好性、心肌存活以及各种脑疾病等作出判断。它是第一个被收入美国药典的 PET 药物^[1]。其最广泛采用的合成方法是用(^{18}F) F^- 在穴状配体 Kryptofix 2.2.2(氨基聚醚(2.2.2),4,7,13,16,21,24-六氧杂-1,10-二氮杂双环(8.8.8)-二十六烷,下称 APE)催化下与前体化合物 1,3,4,6-四氧乙酰基-2-氧三氟甲烷磺酰基- β -右旋吡喃甘露糖进行 2-位亲核取代反应,得到空间异构纯的产品^[2]。APE 因与碱金属、碱土金属和重金属阳离子形成稳定的络合物使盐溶于非极性介质,在 ^{18}FDG 合成中作为相转移催化剂,使 $\text{KF} (^{18}\text{F})$ 进入乙腈介质并完成对前体的氟化取代反应。APE 是一种有毒物质,可以引起上睑下垂、窒息和惊厥,老鼠的半致死剂量 LD_{50} 值为 35 mg/kg (i. v.) ^[3],加上缺乏灵敏的检测方法,因而引起一些关注。首先是在合成的纯化方法中尽可能地把 APE 分离掉,然后用合适的检测方法把其含量控制在一定水平下。

目前,常规 ^{18}FDG 的制备大多采用自动化合成系统。系统里通常用预分离柱分离 APE,或者用极性的,如硅胶柱^[4];或者用非极性的,如 C-18 柱^[5]。本工作所用合成系统就是先用两个硅胶柱把氟化后的料液中的 APE 分离后再进行下一步水解的。

为了检测 ^{18}FDG 产品中 APE 的含量,被推荐的方法有 NMR(和/或 IR)^[6],元素分析^[7]等。但绝大多数都使用 TLC 法,所用固定相为硅胶,流动相为甲醇-氢氧化铵(9:1)^[8]或含体积分数为 0.1%三乙胺的甲醇^[9],色层带在碘室里显色。这种方法取样少,简单,适用于常规分析。但此法灵敏度较差,通常为 0.05 mg/ml ^[7]或 0.025 mg/ml ^[8],但有报道说,用碘铂酸盐喷雾显色可将测定灵敏度提高到 $2.5 \mu\text{g/ml}$ ^[10]。另外,在用 TLC 做 ^{18}FDG 样品等渗溶液分析时,APE 的色斑会变宽, R_f 值亦稍变大,在与标准色带比较分析时产生干扰。而要消除这种干扰,需在调等渗之前进行取样分析^[10]。这对自动化合成工艺是很不便的。因此,尽管 TLC 方法作为 ^{18}FDG 产品中的 APE 含量的控制分析已被广泛报道,但是由于在碘蒸气显色后在 TLC 板上出现的黄色 APE 色斑与棕色的葡萄糖色斑的区别不是十分明显,色斑的比较也不能给出确切的量,加上不同工艺制得的 TLC 板性能各异,文献结果有时不能在不同实验室很好的重现,这里需要更合适的方法。

J. A. Drumhiller 等^[11]在 1984 年报告了用标准高氯酸铅分光光度滴定测定 APE 的方法。据报道, Pb(II) 在 pH6.4 的吗啉乙磺酸(MES)缓冲液中与 APE 形成 1:1 络合物,络合反应在 2~15 分钟内完成,最大吸收峰在 249 nm。其克分子吸光系数为 6000~7000,可以测定 $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 的 APE。由于我们在 ^{18}FDG 产品质控分析中,使用硅胶 TLC 分析 APE 时遇到了上述的不确定性,对 Drumhiller 的报道发生了兴趣,试图改用分光光度法测定 APE,并作了比较详细的研究。这个方法非常适合于对 ^{18}FDG 产品中的微量 APE 作定量分析,并且是一个更简单、快速、经济的方法,适合于常规分析。



Cryptand Kryptofix (2.2.2)
〔氨基聚醚(2.2.2)〕

1 实验与结果

1.1 仪器与试剂

回旋加速器; Cyclone 30, 中国原子能科学研究院与比利时 IBA 公司联合研制。¹⁸F DG 自动化合成装置; 比利时 IBA 公司。分光光度计; UV-210, 日本岛津(Shimadzu)公司出品, 1 cm 石英比色杯。pH 计; pHS-10C 数字酸度/离子计, 萧山市科学仪器厂。氨基聚醚(2.2.2); Kryptofix 2.2.2, 99%, 美国 Sigma 公司。柠檬酸(C₆H₈O₇·H₂O); A. R., 北京化工厂。硝酸铅[Pb(NO₃)₂]; A. R., 沈阳市试剂二厂。氢氧化钠(NaOH); A. R., 北京化工厂。水; 自制二次蒸馏水。柠檬酸-氢氧化钠缓冲液的配制: 称取 5.25 g 柠檬酸和 2.0 g 氢氧化钠于烧杯, 用 50 ml 水溶解后, 再用 0.1 mol/L 的 NaOH 和 pH 计调 pH 至合适的值, 最后总体积约为 250 ml。APE 贮液(1.00 mg/ml): 称取 100.0 mg 的 APE 于 50 ml 烧杯, 用热水溶解, 转到 100 ml 容量瓶, 加水定容。Pb(Ⅰ)的水溶液(500 μg/ml): 称取 79.9 mg Pb(NO₃)₂ 于 50 ml 烧杯, 用水溶解, 转到 100 ml 容量瓶定容。

¹⁸F DG 样品: 用 Cyclone 30 加速器, 大体积富集(¹⁸O)H₂O 靶, 通过¹⁸O(p, n)¹⁸F 核反应生成 [¹⁸F]F⁻。在经过阴离子交换膜与 [¹⁸O]H₂O 分离后, [¹⁸F]F⁻ 进入自动化合成系统。然后按与 Padgett 等^[4]报道基本相同的亲核反应与前体化合物进行氟化取代、通过硅胶柱除去 APE 和未反应的 [¹⁸F]F⁻、水解去保护基团, 最后进行酸中和、纯化和 0.22 μm 除菌过滤器过滤, 得到 pH 为 6 的¹⁸F DG 等渗注射液。每批生产中等批量约为 14.8 GBq(400 mCi), 体积约 17 ml。

1.2 分析方法的建立

1.2.1 吸收光谱

往 5 ml 容量瓶中依次加入 1.00 ml 100.0 μg/ml 的 APE 溶液, 1.0 ml pH6.4 缓冲液和 1.0 ml 500 μg/ml Pb(Ⅰ)溶液, 加水定容, 摇匀。相对于试剂空白(等量的缓冲液和 Pb(Ⅰ)溶液)测定 APE-Pb(Ⅰ)络合物在不同波长处的吸光度, 得其吸收光谱, 见图 1。由图 1 可知络合物的最大吸收波长, 亦就是下面实验的工作波长为 253 nm。如无特殊说明, 以下测定均按此项测定条件进行。

1.2.2 络合物生成最佳 pH 选择

观察了不同 pH 条件下, 50.0 μg APE 与 Pb(Ⅰ)络合物吸光度的变化, 见图 2。pH6.1~7.0 比较适合络合物生成, 而 pH6.4 是最佳的。我们注意到, 当 pH 变化时, 络合物的吸收光谱峰位置不变。

1.2.3 显色剂 Pb(Ⅰ)用量的选择

图 3 给出了不同量 Pb(Ⅰ)离子对 100.0 μg APE 与 Pb(Ⅰ)络合物吸光度的影响。结果表明, 选择 500 μg Pb(Ⅰ)是合适的。

1.2.4 缓冲液用量的选择

图 4 显示的结果表明, 当 pH6.4 的缓冲液用量增加到 2.0 ml 时, 50.0 μg APE 与 Pb(Ⅰ)络合物的吸光度略有下降。我们选用 1.0 ml 缓冲液。

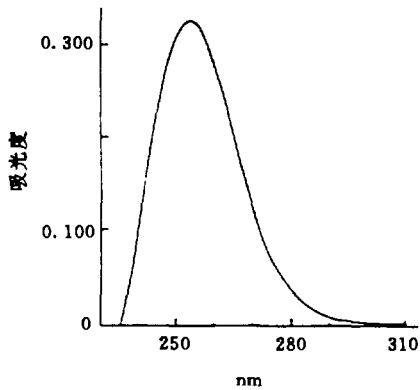


图1 氨基聚醚(2.2.2)-Pb(II)络合物吸收光谱

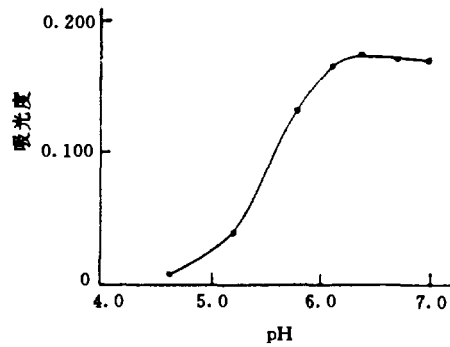


图2 介质 pH 对 APE-Pb(II)络合物吸光度的影响

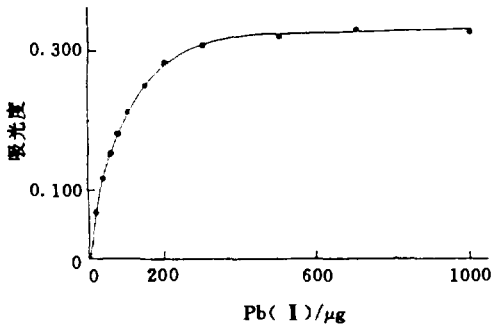


图3 Pb(II)用量对 100 μg APE APE 测定吸光度的影响

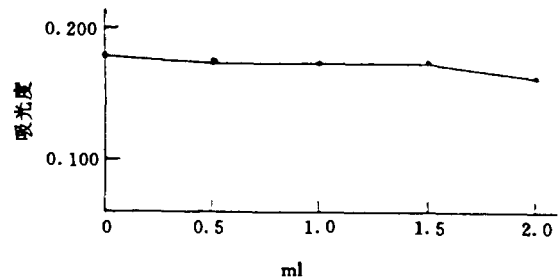


图4 pH6.4 缓冲液用量对 50.0 μg APE 测定吸光度的影响

1.2.5 络合物稳定性

样品显色后,立即按操作步骤测量,即得最大吸光度,并至少保持 7 小时不变。在测定条件下,100.0 μg APE 的吸光度在 7 小时内的变化范围为 0.340 ± 0.001 。不同日期的实验数据重现性亦很好,如连续四天,五次测定 100.0 μg APE 的吸光度平均值和标准偏差为 0.341 ± 0.003 。

1.2.6 共存物的影响

考虑到的共存物包括为求等渗而加入的 NaCl,由合成过程所用前体化合物水解后产生的脱氧葡萄糖(DG)以及不同价态的金属离子。表 1 列出了这些共存物与假设共存物对 50.0 μg APE 测定的影响。如果 ^{18}F FDG 产品中存在三价铁,APE 含量的测定会受严重干扰。所以在 ^{18}F FDG 合成工艺流程中用的水都是高纯的四次蒸馏水,所用靶材料也是高纯度的 $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$,回收的 $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ 必须经过蒸馏纯化后才能用于下一循环。

表 1 共存物对 50.0 μg APE 测定的影响

共存物	加入量	加入形式	APE	
			加入量/μg	测得量/μg
Na ⁺ Cl ⁻	10 mg	NaCl	50	50.5±0.3
DG	0.5 mg	DG	50	50.3±0.5
Ca ²⁺	100 μg	CaCl ₂	50	50.6±0.8
Ni ²⁺	100 μg	Ni(NO ₃) ₂	50	51.3±0.6
Fe ²⁺	100 μg	Fe(NO ₃) ₃	50	≥50

1.2.7 标准曲线的绘制

在以上条件实验基础上,确定了如上 1.2.1 所示测定 APE 的操作步骤,并依此制作了 20.0 μg 到 100.0 μg APE 对吸光度的标准曲线,见表 2 和图 5。同时还观察了标准曲线上一些点的测定精密度(表 3)。

表 2 测定 APE 的标准曲线各点数据

标准曲线测量点	1	2	3	4	5	线性相关系数*	摩尔吸光系数 L·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹
APE 量/μg	20.0	40.0	60.0	80.0	100.0		
吸光度	0.072	0.139	0.209	0.273	0.341		

* 线性方程 $y = 0.0052 + 0.00336x$ 。

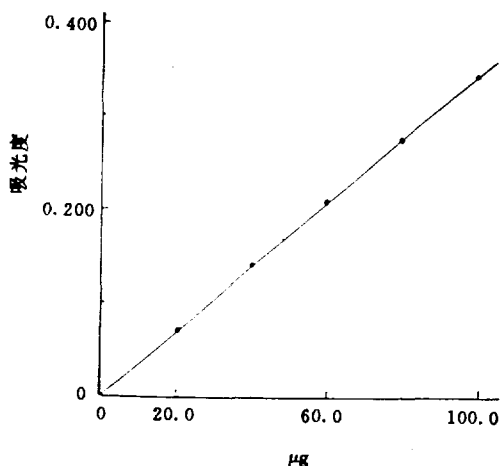


图 5 APE 量-吸光度标准曲线

表 3 标准曲线上一些点的测定精密度

加入量 μg	测得量/μg					平均值 μg	相对标准 偏差
	1	2	3	4	5		
10.0	10.0	9.0	9.0	9.0	10.2	9.4±0.6	±6.4%
20.0	19.4	18.8	19.8	20.0	20.8	19.8±0.7	±3.5%
40.0	38.3	41.0	39.5	39.5	39.5	39.6±1.0	±2.5%
80.0	80.7	78.6	78.8	79.2	79.4	79.4±0.8	±1.0

1.3 样品分析

1.3.1 人工合成样品分析

模拟¹⁸FDG 产品,人工合成样品水溶液的组分为:12.0 μg/ml APE,0.5 mg/ml 2-脱氧葡萄糖(DG)和 10 mg/ml NaCl。对此样品作了直接取样分析和加入法分析,每次取样 1.0 ml,三次取样分析结果见表 4。

表 4 人工合成样品分析结果

(1)	直接分析结果 μg	1	2	3	平均值	相对标准偏差
		11.6	12.2	13.2		
(2)	(1)+20.0 μg APE 测定结果	32.2	32.2	31.6	32.0±0.3	±0.9%
(3)	加入法分析结果 (2)-20.0 μg	12.2	12.2	11.6	12.0±0.3	±2.5%

由表 4 数据可见,在样品含量低时用加入法分析得到的结果更准确,标准偏差更低。

1.3.2 实际样品分析

用加入法借助标准曲线对实际¹⁸FDG 样品中的 APE 含量进行了测定,结果见表 5。

表 5 实际样品分析结果

样品批号	取样量 ml	加入 APE μg	平行取样分析结果/μg					平均值	样品中 APE 含量/μg/ml	测定相对 标准偏差/%
			1	2	3	4	5			
960617	0.50	20.0	24.2	25.6	24.7	24.9		24.9±0.6	9.8±1.2	±12.2
960704	0.50	20.0	24.7	23.6	23.0	23.3		23.5±0.5	7.0±1.0	±14.3
960828	1.00	0	7.4	6.9	6.5	8.2	5.4	6.9±1.0	6.9±1.0	±14.5
	1.00	20.0	27.4	26.4	20.8	26.0	26.3	26.6±0.5	6.6±0.5	±7.5

实际样品分析结果表明,通过本自动化合成装置合成的¹⁸FDG 产品中 APE 含量在 10 μg/ml 以内,这样含量的样品,用加入法测得的结果的标准偏差要低些。总的来说,本方法在测定 5~10 μg APE 的相对标准偏差约为±10%~±15%。方法的检出限为 1~2 μg。

2 结 论

(1) APE-Pb(Ⅰ)络合物-UV 分光光度法适用于测定水溶液中微量 APE。络合物的最大吸收波长 253 nm,摩尔吸光系数 $\epsilon = 6.4 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。标准曲线 20.0~100.0 μg APE 与吸光度的线性相关系数大于 0.999。方法的检出限为 1~2 μg。5~10 μg APE 的测定相对标准偏差为±10%~±15%。

(2) 用更易得到的柠檬酸-氢氧化钠缓冲体系代替光度滴定法中使用的吗啉乙磺酸,使方法更简单。

(3) 与分光光度滴定法中滴定时每加滴一次要等 3~15 min 以使络合反应达到平衡相对照,分光光度法用 9~90 倍于 APE 量的显色剂 Pb(Ⅰ),显色后立即达最大吸收,而且显色稳定,重现性好。加上¹⁸FDG 样品不需要作任何预先处理,分析步骤又极为简单,三个平行样品分析可在 20 分钟之内完成。

(4) 用于测定 10 μg/ml 以下 APE 含量时,加入法比直接取样测定有较高的准确度和精密密度。

(5) 与目前报道的硅胶 TLC 法相比,分光光度法的优点是更准确、更简单、更省时、更经济,其缺点是取样量多,但这一点对于建立¹⁸FDG 生产方法的阶段及稳定生产后的抽样分析来说不是太大的问题。这里介绍的分光光度法非常适用于¹⁸FDG 产品微量 APE 的定量测

定。

本工作属于国家自然科学基金资助项目“核药物化学”下“ β^+ 正电子放射的脑显像剂 ^{18}F FDG的研制”课题的部分内容。

参 考 文 献

- 1 United States Pharmacopoeia Convention, Fluorodeoxyglucose F-18 Injection Monography, United States Pharmacopoeia National Formulary xx I, 1989, suppl. 9, 3190
- 2 Hamacher K, Coenen H H, Stöcklin G. Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2- ^{18}F fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution. *J. Nucl. Med.*, 1986, 27, 235
- 3 Baudot Ph, Jacue M, Robin M. Effect of a diaza-polyoxa-macro-bicyclic complexing reagent on the urinary elimination of lead in lead-poisoned rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1977, 41, 113
- 4 Pdggett H C, Schmidt D G, Luxen A, et al. Computer-controlled radiochemical synthesis, A chemistry process control unit for the automated production of Radiochemicals. *Appl. Radiat. Isot.*, 1989, 44(5), 433
- 5 Hamacher K, Blesang G, Nebeling B. Computer aided synthesis (CAS) of no-carrier added 2- ^{18}F Fluoro-2-deoxy-D-glucose, an efficient automated system for the aminopolyether supported nucleophilic fluorination. *Appl. Radiat. Isot.*, 1990, 41, 49
- 6 Coenec H H, Pike V W, Stöcklin G, Wagner R. Recommendation for a practical production of 2- ^{18}F Fluoro-2-Deoxy-D-glucose. *Appl. Radiat. Isot.*, 1987, 38, 605
- 7 Moerlin S M, Brodack J W, Siegel B A, Welch M J. Elimination of contaminant kryptofix 2. 2. 2 in the routine production of 2- ^{18}F fluoro-2-deoxy-D-glucose. *Appl. Radiat. Isot.*, 1989, 40(9), 741
- 8 Chaly T, Dahl J R. Thin layer chromatographic detection of kryptofix 2. 2. 2 in the routine synthesis of 2- ^{18}F Fluoro-2-deoxy-D-glucose. *Nucl. Med. Biol.*, 1989, 16(4), 385
- 9 Vora M M, Boothe T E, Finn R D, et al. Multimillicurie preparation of 2- ^{18}F Fluoro-2-deoxy-D-glucose via nucleophilic displacement with fluorine-18 labelled fluoride. 1. Purification and quality control procedures. *J. Label. Compd. Radiopharm.*, 1985, 22, 953
- 10 Alexoff D L, Fowler J S, Gatlay S J. Removal of the 2. 2. 2 cryptand (kryptofix 2. 2. 2) from ^{18}F FDG by cation exchange. *Appl. Radiat. Isot.*, 1991, 42(12), 1189
- 11 Drumbiller J A, Laing J L, Taylor T W. Spectrophotometric titration of cryptands and compleximetric titration of Barium with cryptand (2. 2. 2). *Anal. Chim. Acta*, 1984, 162, 315

图书在版编目(CIP)数据

中国核科技报告 CNIC-01152, IAE-0164: 分光光度法测定¹⁸FDG 中的氨基聚醚(2.2.2)/赵贵植等著. —北京: 原子能出版社, 1997. 5

ISBN 7-5022-1656-1

I. 中… I. 赵… II. 核技术-研究报告-中国 N. TL-2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(97)第 07647 号

分光光度法测定¹⁸FDG 中的氨基聚醚(2.2.2)

赵贵植等著

©原子能出版社, 1997

原子能出版社出版发行

责任编辑: 武洁

社址: 北京市海淀区阜成路 43 号 邮政编码: 100037

中国核科技报告编辑部排版

核科学技术情报研究所印刷

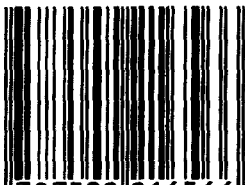
开本 787×1092 1/16·印张 1/2·字数 12 千字

1997 年 5 月北京第一版·1997 年 5 月北京第一次印刷

CHINA NUCLEAR SCIENCE & TECHNOLOGY REPORT

This report is subject to copyright. All rights are reserved. Submission of a report for publication implies the transfer of the exclusive publication right from the author(s) to the publisher. No part of this publication, except abstract, may be reproduced, stored in data banks or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior written permission of the publisher, China Nuclear Information Centre, and/or Atomic Energy Press. Violations fall under the prosecution act of the Copyright Law of China. The China Nuclear Information Centre and Atomic Energy Press do not accept any responsibility for loss or damage arising from the use of information contained in any of its reports or in any communication about its test or investigations.

ISBN 7-5022-1656-1



9 787502 216566 >