

气相色谱法直接测量¹⁸F-FDG 中 Kryptofix 2.2.2 的含量

花 宁¹, 陈立光²

(1. 广州市原子高科同位素医药有限公司, 广东 广州 510089; 2. 广东省人民医院 PET 中心, 广东 广州 510080)

摘要: 以 OV-101 型毛细管作为分离柱, 利用氢火焰检测器(FID)和氮磷检测器(NPD), 采用气相色谱法检测了¹⁸F-脱氧葡萄糖(¹⁸F-FDG)中的 Kryptofix 2.2.2。结果显示, 氨基聚醚 Kryptofix 2.2.2 在分离柱的保留时间为 2.4 min, 最低检测水平为 0.50 mg/L。30 批次本中心常规制备的¹⁸F-FDG 中 Kryptofix 2.2.2 含量检测值为 1.10 ± 0.15 mg/L; 10 批没有应用 AG50 型树脂吸附的平均含量检测值为 106.0 ± 21.0 mg/L。以上结果表明, 应用气相色谱法对 Kryptofix 2.2.2 可以进行快速、高灵敏度检测, 其检测灵敏度比 TLC 法高出 50 倍; 同时可直接测量, 排除其他杂质的干扰; 该方法可推广应用于¹⁸F-FDG 和其它¹⁸F 亲核标记正电子药物的日常质量控制检测。

关键词: ¹⁸F-FDG; Kryptofix 2.2.2; 气相色谱

中图分类号: TQ463.7; O657.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-7512(2007)02-0105-03

Direct Measurement of Kryptofix 2.2.2 in ¹⁸F-FDG by Gas Chromatography

HUA Ning¹, CHEN Li-guang²

(1. *Guangzhou Atom High-tech Isotope Medication Limited Company, Guangzhou 510089, China;*

(2. *PET Center, Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou 510080, China*)

Abstract: Kryptofix 2.2.2 in ¹⁸F-FDG preparation is analyzed by gas chromatography coupled with OV-101 capillary column, and nitrogen-selective detector (NPD) and FID. Its retention time is 2.4 min from the column, and detected at the levels as low as 0.50 mg/L; the average residual of 30 normal batches are 1.10 ± 0.15 mg/L ($n=30$). Direct measurement of Kryptofix 2.2.2 in routine ¹⁸F-FDG preparation is effective using Gas Chromatography with a high sensitivity (50 times better than TLC method) for the daily quality control of ¹⁸F-FDG.

Key words: ¹⁸F-FDG; Kryptofix 2.2.2; gas chromatography

2-[¹⁸F]氟-2-脱氧-D-葡萄糖(¹⁸F-FDG)是最常用的正电子显像剂。利用氨基聚醚(Kryptofix 2.2.2)作为相转移催化剂, 进行亲核取代反应获得¹⁸F-FDG 是目前首选方法。由于 Krypt-

ofix 2.2.2 潜在的强毒性^[9](大鼠中半致死量为 35 mg/L), 随着利用 Kryptofix 2.2.2 作为相转移催化剂进行亲核取代反应开发¹⁸F 标记 PET 新药的进展, 放射性药物中 Kryptofix 2.2.2 含

量的测定变得越来越重要。 ^{18}F -FDG 是载于美国食品和药品管理局(FDA)的第一个 PET 放射性药物,美国药典在 2000 年版制订关于 ^{18}F -FDG 的质量要求,Kryptofix 2.2.2 含量必须低于 50 mg/L。

目前文献报道用于检测 Kryptofix 2.2.2 含量的方法有 5 种。其中用于半定量分析的硅胶板-TLC 法是目前分析 Kryptofix 2.2.2 最实用的方法^[1],其展开剂为 V(甲醇):V(30%氨水)=9:1 或 0.1%三乙胺甲醇溶液,用碘显色,并与 50 mg/L 标准的层析斑点比较,要求 ^{18}F -FDG 注射液所呈现斑点的大小及明暗度不能超过标准溶液,但其最低检出限为 2.5 mg/L,且容易受其它化学杂质的干扰^[2]。Garmestrai^[3]采用加入放射性核素氙,进行元素分析,该方法尽管能获得 0.5 mg/L 的高灵敏度,但需要在合成全程引入放射性核素氙,操作繁琐。文献^[4]采用液相色谱和质谱联用的方法测定极微水平的 Kryptofix 2.2.2,最低检出限为 1 $\mu\text{g/L}$,但液质联用的仪器价格昂贵,不易普及。近年来色谱法,包括 HPLC 法^[5]和 GC 法等定量分析方法也取得实效。我国国家药品监督管理局(SFDA)对 ^{18}F -FDG 中含量提出了少于 25 mg/L 的质控标准,并推荐采用紫外分光法测量,但该方法需要在柠檬酸-氢氧化钠缓冲介质中进行测量,引入过多的物质,影响因素多^[6]。本工作拟在参考 RICHARD 等^[7]采用气相色谱方法检测 Kryptofix 2.2.2 的基础上,尝试应用 GC 法定量、快速分析 Kryptofix 2.2.2。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与材料

RDS-111 型回旋加速器、Chemistry Process Control Unit(CPCU)合成模块;美国 CTI 公司产品;LC-17A 型气相色谱仪,配备氢火焰检测器(FID)和氮磷检测器(NPD);日本 Shimadzu 公司产品;OV-101 型毛细管分离柱 5.8 m \times 0.53 mm \times 1.0 μm ;兰州大学色谱研究所产品。

4,7,13,16,21,24-六氧-1,10-二氮双环[8,8,8]二十六烷(Kryptofix 2.2.2),纯度>99.8%;Aldrich 公司; K_2CO_3 :纯度>99.9%,Aldrich 公司产品;1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-O-三氟甲磺酸基- β -D-甘露糖,纯度>99.5%;

Aldrich 公司;无水乙腈,纯度>99.9%;Aldrich 公司;甲醇,HPLC 级;Aldrich 公司产品;AG11A8、AG50 Resin 树脂;Bio-Rad 公司产品; ^{18}O - H_2O :原子丰度>97%,Cambridge 公司产品。

1.2 ^{18}F -FDG 的制备和 Kryptofix 2.2.2 的去除

由 RDS-111 型回旋加速器轰击,利用 ^{18}O (p, n) ^{18}F 核反应获得的 $^{18}\text{F}^-$ 从靶室内传出后被经过预先活化的四甲胺(QMA)柱捕获。用 1.0 mL 含 3.0 mg K_2CO_3 和 10.0 mg Kryptofix 2.2.2 的洗脱液将 $^{18}\text{F}^-$ 以氟化冠醚([K/Kryptofix] $^+$ $^{18}\text{F}^-$)的形式洗脱到反应管中,Kryptofix 2.2.2 作为该相转移催化剂^[8]与前体 1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-O-三氟甲磺酸基- β -D-甘露糖进行 2-位亲核取代反应,得到空间异构中间产品,再在盐酸介质中水解得到粗产品 ^{18}F -FDG,该粗产品先后经过 AG50、AG11A8 Resin 树脂、C18 反相柱、 Al_2O_3 柱及 0.2 μm 微孔滤膜纯化,以去除粗产品中的其他杂质及 Kryptofix 2.2.2。纯化后的产品收集于无菌真空瓶中供临床使用。整个合成通过 CPCU 自动合成模块完成。

1.3 Kryptofix 2.2.2 的气相分析条件

气相色谱仪配备氢火焰检测器(FID)和氮磷检测器(NPD);选用 OV-101 型毛细管作为分离柱;10 mL/min 高纯氦气为载气;柱温 220 $^\circ\text{C}$,进样口温度 250 $^\circ\text{C}$,检测器温度 280 $^\circ\text{C}$;进样模式为分流进样;进样量 2 μL ;NPD 检测器的补偿气体为:高纯氦气 20 mL/min,空气 300 mL/min,和高纯氦气 10 mL/min;色谱分析软件选用 N-2000 色谱数据工作站。柱温、进样口温度和检测器温度主要参考文献^[7]中的条件,载气和补偿气体主要以出峰效果最佳为依据。

1.4 线性工作曲线的建立

精确称取 4.0 mg Kryptofix 2.2.2 溶解于 10 mL 甲醇溶液中,配制成浓度为 400 mg/L 的原始溶液。精确移取 10、20、50、100、200 μL ,0.6、1.2、2.4、5.0 mL 上述原始溶液于 10 mL 容量瓶中,再加入甲醇至容量瓶刻度线后摇匀,即可获得浓度依此为 0.4、0.8、2.0、4.0、8.0、24.0、48.0、96.0、200.0 mg/L 的系列标准溶液。取上述标准溶液,按 1.3 节的气相色谱分析条件,进样量为 2 μL ,测定 Kryptofix 2.2.2 的峰面积,每个样品进样两次,取其峰面积的平均值。

以 Kryptofix 2.2.2 浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归。

1.5 系统准确度和精密度测定

按 1.4 方法配制 Kryptofix 2.2.2 浓度为 1.0 mg/L 的样品,并进行气相分析,每次进样量一致,测量 3 次,取平均值并利用线性回归方程计算浓度,进而计算回收率。取上述浓度为 1.0 mg/L 的样品,相同条件下连续分析 10 次,计算系统的精密度。

1.6 实验粗样品 Kryptofix 2.2.2 含量的测量

按上述气相色谱分析条件,分别对 30 批次常规生产¹⁸F-FDG 样品进行检测,同时对 10 批次没有使用 AG50 型树脂吸附的非纯化样品进行分析。

2 结果与讨论

2.1 Kryptofix 2.2.2 气相检测峰谱图

Kryptofix 2.2.2 的气相检测谱示于图 1。由图 1 可知,分析时间 8 min, Kryptofix 2.2.2 在分离柱的保留时间为 2.4 min,根据 3 倍信噪比,测出最低检测浓度为 0.50 mg/L,按进样量为 2 μL 计算,在该分离条件下的 NPD 检测器的最低检测水平为 1.0 ng。

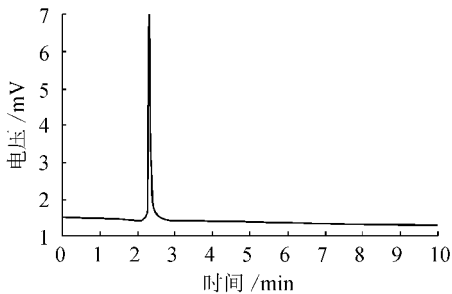


图 1 氨基聚醚 Kryptofix 2.2.2 气相色谱图

2.2 Kryptofix 2.2.2 检测的线性工作曲线

通过对标准溶液 Kryptofix 2.2.2 含量的气相色谱分析,测定 Kryptofix 2.2.2 的峰面积。以 Kryptofix 2.2.2 浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归,建立线性工作曲线,得线性方程 $Y = 76\ 059.21X - 7\ 535.22$, $r = 0.9992$,线性范围为 0.4~200 mg/L。该结果表明 Kryptofix 2.2.2 的峰面积与浓度有良好的线性关系。

2.3 系统准确度和精密度测定

3 次测量结果的平均值经线性回归方程计算后为 0.93 mg/L,回收率为 93%,显示系统的准确度良好;10 批次样品的测量结果为 0.95 ± 0.10 mg/L,表明系统测量重复性良好,精密度可满足测量要求。

2.4 ¹⁸F-FDG 粗产品中 Kryptofix 2.2.2 含量检测

常规制备的 30 批次¹⁸F-FDG 中 Kryptofix 2.2.2 含量的检测值为 1.10 ± 0.15 mg/L ($n = 30$);10 批次没有应用 AG50 型树脂吸附的非纯化产品的检测值为 106.0 ± 21.0 mg/L ($n = 10$)。没有应用 AG50 型树脂吸附的产品中 Kryptofix 2.2.2 平均含量为使用 1.2 g,是 AG50 型树脂净化处理后样品的 100 倍,其检测值远远超过美国药典在 2000 年版对¹⁸F-FDG 中含量的质量控制要求。如果在¹⁸F-FDG 的日常制备过程中,由于 AG50 型树脂的用量不够或失效都会导致 Kryptofix 2.2.2 得不到有效的吸附和净化,而使¹⁸F-FDG 终产品中 Kryptofix 2.2.2 含量大幅度升高,其潜在的强毒性会对接受检查的患者产生危害,因此,在¹⁸F-FDG 常规生产中应保证 AG50 树脂的用量。

本研究结果显示,利用气相色谱法检测 Kryptofix 2.2.2 与其它方法相比有以下三方面的优势:①可以实现实时定量分析。文献[1]中的最低检出限为 2.5 mg/L,本方法最低检出限为 0.5 mg/L,比传统的硅胶板-TLC 法灵敏度高 50 倍,同时还可以排除其它化学物质对显色的干扰;②明显缩短了分析时间,GC 法检测分析时间只需要 8 min 即可完成;③仪器和检测成本明显下降。大多数 PET 中心都拥有气相色谱仪,每次检测的消耗品仅为各种高纯气体。

3 小结

应用气相色谱法对 Kryptofix 2.2.2 可以进行定量和高灵敏度分析,其检测灵敏度比传统 TLC 法高出 50 倍;可直接测量,不需要加入整合剂等显色成份,排除其他化学杂质的干扰。该方法可推广应用于¹⁸F-FDG 的日常质量控制检测;并可以推广应用于其它利用 Kryptofix 2.2.2 作为相转移催化剂,进行亲核取代反应开发的¹⁸F 标记新型放射性药物的质量控制^[10]。

(下转 97 页)

参考文献:

- [1] CHALY T, DAHL JR. Thin Layer Chromatographic Detection of Kryptofix 2. 2. 2 in the Routine Synthesis of ^{18}F -FDG [J]. Nucl Med Biol, 1989, 16: 385-387.
- [2] MOCK BH, WINKLE W, VAVREK MT. A Color Spot Test for the Detection of Kryptofix 2. 2. 2 in ^{18}F -FDG Preparation [J]. Nucl Med Biol, 1997, 24: 193-195.
- [3] GARMESTANI K, LINK JM, KROHN KA. Synthesis of Tritiated Dibotane and Cryptand [2. 2. 2] [J]. J Labelled Compd Radiopharm, 1989, XX-VIII; 1 171.
- [4] YING Ma, BILL X, MICHAEL A, et al. Quantification of Kryptofix 2. 2. 2 in 2-[^{18}F]FDG and Other Radiopharmaceuticals by LC/MS/MS [J]. Nucl Med Biol, 2002, 29: 125-129.
- [5] KRUSE MA, REES SE, WATKINS GL. Quality Control of Kryptofix or Tetrabutylammonium Ion in FDG Sample by Quantitative HPLC Analysis, Proceeding of 47th Annual Meeting [J]. Nucl Med, 2000, 27(2): 148.
- [6] 赵贵植, 龙卫忠, 李大康, 等. 分光光度法测定 ^{18}F -FDG 中的氨基聚醚(2. 2. 2) [R]. 北京: 原子能出版社, 1997.
- [7] RICHARD A, FERRIERI D, SCHLYER DL, et al. Direct Analysis of Kryptofix 2. 2. 2 in ^{18}F -FDG by Gas Chromatography Using a Nitrogen-selective Detector [J]. Nucl Med Biol, 1993, 20: 367-369.
- [8] ALEXOFF DL, FOWLER JS, GATLEY SJ. Remove of the Kryptofix 2. 2. 2 From ^{18}F -FDG by Cation Exchange [J]. Appl Radiat Isot, 1991, 42: 1 189.
- [9] LEWIS RJ, TATKEN RL, Eds. Registry of Toxic Effect of Chemical Substances US Department of Health and Human Services [M]. Cincinnati Ohio: Center for Disease Control, 1979.
- [10] 党淑琴, 夏振民. PET 放射性药物的质量保证和质量控制 [J]. 同位素, 2001, 14(3-4): 241-245.