

การพัฒนาสารติดฉลาก ^{188}Re -Hynic-Lanreotide เพื่อใช้งานบำบัดรักษาโรคมะเร็ง

วิราณี ศรีเวียง*¹ นภารัตน์ มินสาคร² และจตุพล แสงสุริยัน²

¹กลุ่มวิจัยและพัฒนานิวเคลียร์ ²ศูนย์ไอโซโทปปรังสี สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ

16 ถ.วิภาวดีรังสิต จตุจักร กทม. 10900 โทรศัพท์ 02-5795230 ต่อ 5912 โทรสาร 02-5620125

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้มีการนำลิแกนด์ Hynic ที่สามารถเกิดสารเชิงซ้อนกับโลหะของไอโซโทปปรังสีในสถานะที่มีความรุนแรงน้อยกว่าลิแกนด์ทั่วไปมาคอนจูเกตกับเปปไทด์ Lanreotide และแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค HPLC จากนั้นหาความเข้มข้นด้วยเครื่องยูวีสเปกโตรมิเตอร์ และยืนยันโครงสร้างด้วยเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์พบพิกที่ M/Z เท่ากับ 1231 การทดลองติดฉลาก Hynic-Lanreotide กับสารไอโซโทปปรังสี Rhenium-188 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่ให้ร้อยละการติดฉลากสูงสุด พบว่าต้องใช้ coligand (tricine) 20 มิลลิกรัม ปริมาณรีดิวซิงด์เอเจนต์ ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 350 ไมโครกรัม Hynic-Lanreotide 10 ไมโครกรัม ReO_4^- 3 – 10 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จะได้ร้อยละการติดฉลากประมาณ 60 – 70% และการทำให้บริสุทธิ์มากยิ่งขึ้นด้วย sep pak® ช่วยเพิ่มความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีเพิ่มได้ถึง 85 – 90%
คำสำคัญ : เปปไทด์, สารไอโซโทปปรังสี, รีเนียม-188, ลิแกนด์, สารติดฉลาก

Development of ^{188}Re -Hynic-Lanreotide as radiopharmaceutical for cancer treatment

W. SRIWIANG*¹, N. MINSKORN², and J. SANGSURIYAN²

¹Research and Development Section, ²Isotope Center,

Thailand Institute of Nuclear Technology

16 Viphavadi Rangsit Rd, Chatuchak Bangkok, Thailand 10900

Abstract

Hynic ligand, which complexes with metal radionuclide in milder condition than other normal ligands, was conjugated with peptide, Lanreotide. The conjugated product was purified by HPLC and its concentration was estimated by UV-Vis spectrophotometer. Molecular weight of Hynic-Lanreotide was confirmed by mass spectrometer (TOF-MS) with M/Z at 1231. Labeling of Hynic-Lanreotide with Re-188 radionuclide was done by wet labeling to verify optimum condition. The optimum condition found was as follows; 20 mg coligand (tricine), 350 μg reducing agent ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) and 10 μg Hynic-Lanreotide labeled with 3 – 10 mCi ReO_4^- at 70 $^\circ\text{C}$ for 1 hour. The labeling yield was ranged between 60 and 70%. Further purification by solid phase extraction (C-18 sep pak®) increased radiochemical purity to 85 - 90%.

Key word: Peptide, Re-188, Radiolabeling, Hynic, Ligand

1. คำนำ

Rhenium-188 (Re-188) เป็นไอโซโทปรังสีที่เหมาะสมในการใช้เป็นรังสีรักษา [1] เนื่องจากสลายตัวให้รังสีเบตาพลังงานสูง ($E_{\max}$ 2.27 Mev) ให้รังสีแกมมาที่ใช้ในการถ่ายภาพการกระจายตัวของสารรังสี ($E_{\max}$ 155 keV, 15%) มีครึ่งชีวิตสั้น ($t_{1/2}$ 17 h) และเตรียมได้โดยระบบไอโซโทปเจเนอเรเตอร์ อีกทั้งยังมี radiochemistry คล้ายกับ Technetium-99m ในการเตรียมเภสัชภัณฑ์รังสีของ Re-188 สำหรับ targeted radiotherapy จะต้องนำ Re-188 ติดฉลากกับสารชีวโมเลกุล เช่น monoclonal antibodies (MoAb), antibodies fragment และ เปปไทด์ โดยผ่านหมู่ฟังก์ชัน (functional group) ในโครงสร้างของลิแกนด์ (bifunctional chelating agent) ที่ทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างสารไอโซโทปรังสีกับสารชีวโมเลกุล ในโครงสร้างของลิแกนด์จะมีหมู่ฟังก์ชันที่คอนจูเกตกับสารชีวโมเลกุล และหมู่ฟังก์ชันที่เกิดสารเชิงซ้อนกับโลหะของสารไอโซโทปรังสี เนื่องจากสถานะที่ทำให้เกิดสารเชิงซ้อนระหว่างไอโซโทปรังสีกับลิแกนด์ทั่วไป เช่น N_3S triamidethiols, N_2S_2 diamidedithiols, diaminedithiols, monoamidemonoaminedithiols, PnAO propyleneamine oxine และ tetraamines จะเป็นสถานะที่ค่อนข้างรุนแรงจึงไม่เหมาะที่จะนำลิแกนด์เหล่านี้มาคอนจูเกตกับสารชีวโมเลกุล เพราะสถานะที่รุนแรงจะทำให้ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารชีวโมเลกุลเสื่อมลง จึงมีการศึกษาทดลองนำลิแกนด์ชนิดอื่นที่สามารถเกิดสารเชิงซ้อนกับโลหะของไอโซโทปรังสีในสถานะที่รุนแรงน้อยกว่ามาใช้ ซึ่งก็คือ 2-Hydrazinonicotinamide (Hynic) และ อนุพันธ์ของ bis(hydroxyamide) [2, 8]

มีการใช้ Hynic เป็นลิแกนด์ในการติดฉลากสารชีวโมเลกุลของ MoAb, chemotactic peptide, oligonucleotide และ somatostatin analogues กับไอโซโทปรังสีของ Tc-99m กันอย่างแพร่หลาย ด้วยคุณสมบัติทางเคมีของ Re-188 ที่คล้ายกับ Tc-99m การพัฒนาเภสัชภัณฑ์ของสารชีวโมเลกุลเพื่อใช้ในการบำบัดรักษาโดยใช้ hynic เป็นลิแกนด์และ tricine เป็น coligand เช่นเดียวกับที่ใช้ในการวินิจฉัยของ Tc-99m น่าจะให้ผลการติดฉลาก การกระจายตัวไปสู่อวัยวะเป้าหมายและนำไปสู่ผลการรักษาที่มีประสิทธิภาพซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นเภสัชภัณฑ์ในการรักษาได้ในอนาคต

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการเตรียมและการติดฉลากสารรังสี Re-188 กับสารชีวโมเลกุล โดยมีลิแกนด์ hynic และ สารชีวโมเลกุลที่เลือกใช้ คือเปปไทด์ที่เป็นอนุพันธ์ของ somatostatin (Lanreotide) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทำให้เซลล์มะเร็งฝ่อลง โดยเปปไทด์ชนิดนี้จะจับกับตัวรับ (receptor) ที่ผิวของเซลล์มะเร็งขณะเดียวกันก็จะทำหน้าที่เป็นตัวพา (carrier) ไอโซโทปรังสี Re-188 ซึ่งเป็นตัวปล่อยรังสีไปยังอวัยวะเป้าหมายได้อย่างเฉพาะเจาะจง

2. สารเคมีและวิธีการทดลอง

2.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

สารเคมีทั่วไปได้จาก บริษัท Sigma, Aldrich และ Merck ยกเว้น
H-(D) β -Nal-Cys-Tyr-(D)Try-(Boc)Lys-Val-Cys-Thr-NH₂, Boc-Lanreotide ได้จากบริษัทPichem, (Austria)
และ 6-Boc-Hydrazinopyridine-3-carboxylic acid (Boc-Hynic) ได้รับความอนุเคราะห์จาก IAEA

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 เตรียมคอนจูเกต Hynic-Lanreotide

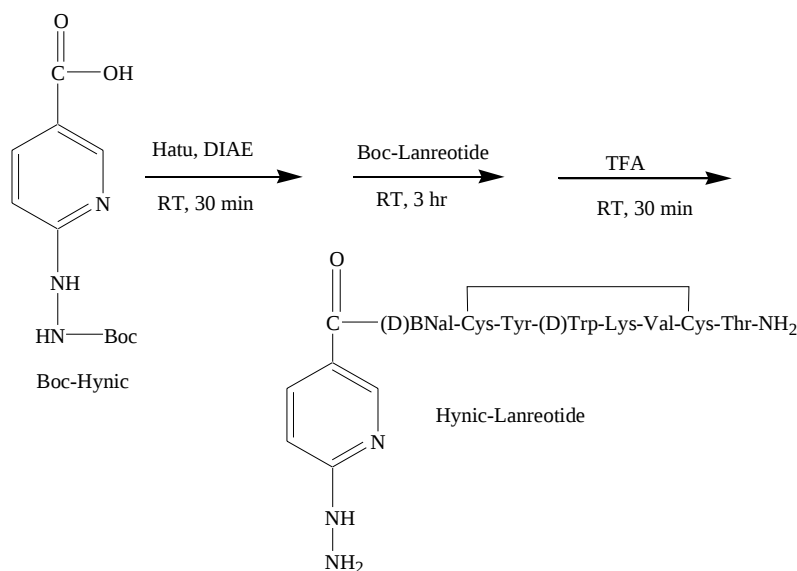
เตรียมสารละลายต่างๆ ในตัวทำละลาย Dimethylformamide (DMF) ดังนี้

สารละลาย A: Boc-hynic เข้มข้น 20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ใช้ 21.17 μl (1.672 μmol)

สารละลาย B: o-Benzotriazol-1-yl-N, N, N', N'-Tetramethyluronium hexafluorophosphate (HATU) เข้มข้น 20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ใช้ 47.68 μl (2.51 μmol)

สารละลาย C: Diisopropyl ethylamine (DIAE) 10 μl ใน DMF 300 μl ใช้ 11 μl (4.18 μmol)

อัตราส่วนโมลในการทำปฏิกิริยา Boc-lanreotide: Boc-Hynic: HATU: DIAE = 1: 2: 3: 5
(ขั้นตอนในการเตรียมตามรูปที่ 1)



รูปที่ 1 แสดงขั้นตอนในการเตรียมคอนจูเกตและ deprotect Hynic-Lanreotide

ผสมสารละลาย A 30 μ l, B 60 μ l, และ C 20 μ l ทิ้งให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที ก่อนที่จะนำสารละลายผสมนี้เติมลงในสารละลายของ Boc-lanreotide (1.39 mg Boc-lanreotide ใน 20 μ l DMF และ 5 μ l H₂O) รอให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องนาน 3 ชั่วโมง จึงเติมน้ำ 1.0 ml แล้วผ่าน sep pak C18 cartridge ล้างด้วยน้ำ 3-4 ml จากนั้นชะผลิตภัณฑ์ออกด้วย acetonitrile (ACN) 1.0 ml ลอดตัวทำละลายให้เหลือประมาณ 100 μ l ด้วยก๊าซไนโตรเจน และกำจัดหมู่ Boc ออก (deprotect) โดยการเติม Trifluoroacetic acid (TFA) 300 μ l รอให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที จึงเป่า TFA ออกด้วยก๊าซไนโตรเจน ก่อนทำการวิเคราะห์แยกด้วยเครื่อง HPLC โดยมีสภาวะในการแยกดังนี้

column: spericlon C18, 5 μ m, 4.6 $\times$ 25 mm

detector: UV 220 nm

gradient system: solvent A 0.1% TFA in acetonitrile, solvent B 0.1% TFA in H₂O

0-2 min 0 %B, 2-10 min 0-50 %B, 10-15 min 50 %B, 15-22 min 50-60 %B, 22-30 min

60-80 % B, 30-33 min 80 % B, 33-35 min 80-0 %B, 35-38 min 0 %B.

flow rate: 1.0 ml/min

เก็บตัวอย่างฟิคที่เวลาประมาณ 19 นาที เพื่อตรวจสอบคุณภาพ

2.2.2 ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของ Hynic-lanreotide

นำตัวอย่างที่เก็บได้ (เวลาประมาณ 19 นาที) มาลดปริมาตรโดยการเป่าด้วยก๊าซไนโตรเจนแล้วนำมาตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยเครื่อง HPLC โดยเทียบกับ std. Lanreotide และ std. Boc-Lanreotide เมื่อตรวจสอบแน่ชัดแล้วว่าเป็นฟิคไหนจึงทำการแยกให้บริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่งแล้วเก็บตัวอย่างฟิคที่เป็น Hynic-lanreotide โดยมีสภาวะในการแยกเหมือนข้อ 2.2.1 แต่ปรับเปลี่ยน gradient system เป็น 0-20 min 30-50 %B, 20-22 min 50 %B, 22-30 min 50-80 %B, 30-35 min 80 %B, 35-37 min 80-30 %B และ อัตราเร็วของ mobile phase เป็น 0.7 ml/min

2.2.3 หาความเข้มข้นของ Hynic-lanreotide

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Lanreotide เข้มข้น 2.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 μ g/ml พร้อมทั้งสารตัวอย่าง (Hynic-lanreotide) ที่เจือจางในอัตราส่วนเหมาะสม นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 220 nm จากนั้นเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นสารมาตรฐานกับค่าการดูดกลืนแสงเพื่อหาความสัมพันธ์ของสมการเส้นตรงและคำนวณความเข้มข้นของสาร Hynic-lanreotide ที่เตรียมได้ แล้วดวงแบ่งเป็นปริมาณน้อย ๆ สำหรับติดฉลากกับสารรังสี Rhenium -188 ก่อนทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer

2.2.4 การติดฉลากไอโซโทปรังสี ^{188}Re กับ *Hynic-lanreotide*

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการติดฉลาก ^{188}Re -Hynic-lanreotide ทำได้โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ Co-ligand (tricine), ปริมาณ reducing agent ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), ปริมาณของ Hynic-lanreotide จากนั้นตรวจสอบคุณภาพด้วยเทคนิค TLC และ HPLC ทำให้บริสุทธิ์ด้วย sep pak C18 cartridge

TLC :

ใช้ ITLC-SG (Gelman Science) เป็นเฟสคงที่ โดยมีตัวทำละลายสองชนิดคือ phosphate buffer saline (PBS) แยก free ReO_4^- , ^{188}Re -tricine ($R_f = 1$) ออกจาก ^{188}Re -hynic-lanreotide ($R_f = 0$) และ 50% ACN แยก colloid ($R_f = 0$)

ร้อยละการติดฉลากหาได้จาก $100 - \% \text{ReO}_4^- + \% \text{unlabeled peptide (PBS)} - \% \text{colloid (50\% ACN)}$

HPLC System :

คอลัมน์ : spherclone C18 4.6x250 mm 5 μm

ดีเทคเตอร์ : beta detector with multichannel analyzer

ตัวทำละลาย A: 0.01 N phosphate buffer pH6, ตัวทำละลาย B: acetonitrile

gradient system : 0-3 min 0% B, 3-10 min 0-35% B, 10-20 min 35% B, 20-23 min 35-70% B, 23-26 min 70% B, 26-27 min 70-0% B

Sep pak C18 cartridge :

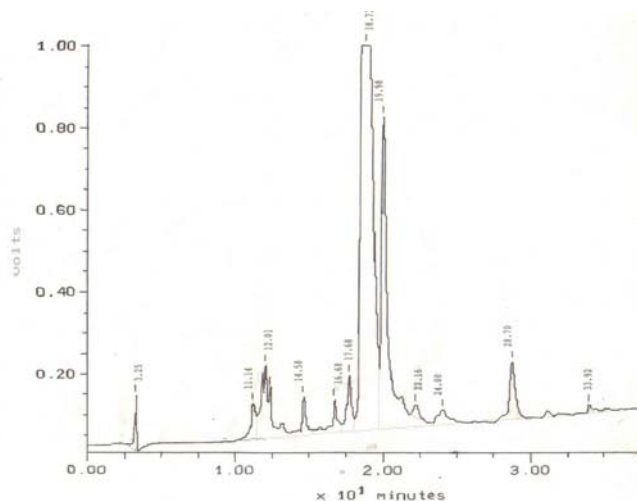
Activate sep pak C18 โดยล้างด้วย 5 mL EtOH, 5 mL water และทำให้แห้งด้วย 5 mL air จากนั้นผ่านสารละลายผสมของ ^{188}Re -hynic-lanreotide ล้างด้วย 5 mL PBS, 3 mL 30% ACN แล้วจึงชะ ^{188}Re -Hynic-lanreotide ออกด้วย 80% ACN เป่าตัวทำละลายออกด้วยก๊าซไนโตรเจน

3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

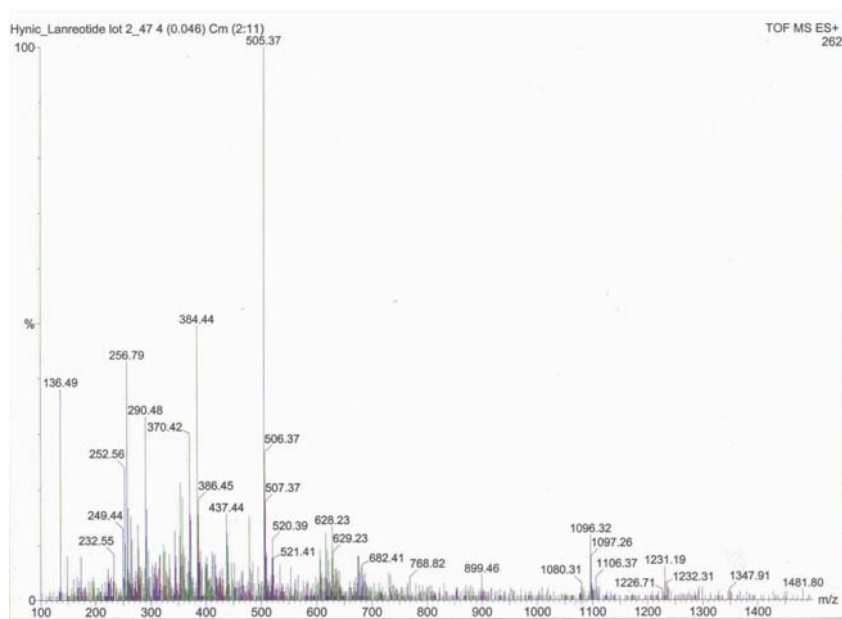
3.1 เตรียมคอนจูเกต *Hynic-lanreotide* และวิเคราะห์แยกด้วย HPLC

จากการคอนจูเกตหลายครั้ง พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการคอนจูเกตคือ ความบริสุทธิ์ของตัวทำละลาย (DMF) และการเกิดไฮโดรไลซิสเมื่อเก็บเปปไทด์คอนจูเกตในรูปสารละลายเป็นเวลานาน ดังนั้นการคอนจูเกต และ deprotect ควรจะทำต่อเนื่องกันและเก็บสารละลายในรูปของแข็งโดยผ่านกระบวนการ lyophilization

ผลจากโครมาโทแกรมของ HPLC พบว่ามีพีคใหญ่ อยู่ที่ 18.72 นาที และ 19.96 นาที (ประมาณ 50% B) ซึ่งคาดว่าจะน่าจะเป็น Hynic-lan ส่วนพีคที่ประมาณ 29.03 นาที (ประมาณ 80% B) คาดว่าจะเป็น Boc-Lanreotide (รูปที่ 2) เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ Lanreotide ($t_r \approx 20$ นาที, 50 %B) และ Boc-Lanreotide ($t_r \approx 34.6$ นาที, 80 %B) โดยใช้ระบบ gradient run อัตราเร็ว และคอลัมน์ชนิดเดียวกัน สามารถยืนยันได้ว่า พีคที่เก็บที่ เวลาประมาณ 19 นาที เป็น Hynic-lanreotide จากการคำนวณร้อยละของการคอนจูเกตจากพื้นที่ใต้พีค พบว่าเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ Hynic-lanreotide ประมาณ 70% เมื่อยืนยันโครงสร้างด้วยเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ (MS) พบพีคที่ค่า m/z 1231 คาลตันซึ่งตรงกับมวลโมเลกุลของ Hynic-Lanreotide และยังพบพีคการแตกตัวเป็น Lanreotide คือ พีคที่ค่า m/z เท่ากับ 1096 คาลตัน (รูปที่ 3)



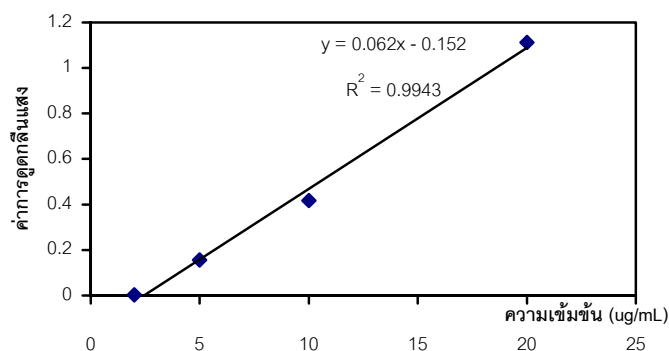
รูปที่ 2 HPLC โครมาโทแกรมของปฏิกิริยาการคอนจูเกต Hynic-lanreotide



รูปที่ 3 ESI-MS สเปกตรัม ของ Hynic-lanreotide แสดงการแตกตัวและ มวลโมเลกุลที่ค่า m/z เท่ากับ 1231 คาลตัน

3.2 การหาความเข้มข้นของ Hynic-lanreotide

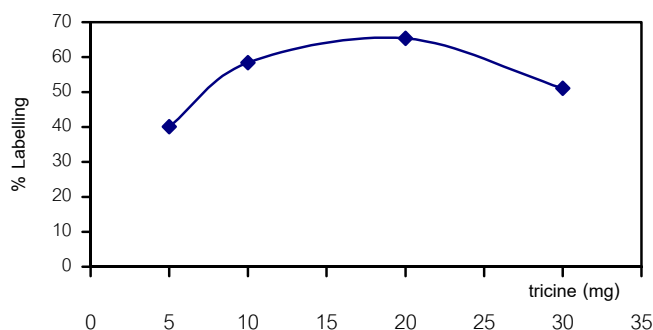
เนื่องจากไม่มีสารมาตรฐาน Hynic-lanreotide จึงใช้ std.Lanreotide แทนเมื่อเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นสารกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4 โดยมีสมการความสัมพันธ์ดังนี้ $Abs = 0.0621conc - 0.152$, correlation coefficient (R^2) = 0.9943 ซึ่งเมื่ออ่านค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง 0.4248 จะคำนวณค่าความเข้มข้นของ Hynic-lanreotide เท่ากับ 9.28 $\mu g/ml$



รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารมาตรฐาน Lanreotide และ ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร

3.3 ผลของปริมาณ Co-ligand ต่อร้อยละการติดฉลาก

เมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณของ tricine ตั้งแต่ 5 mg, 10 mg, 20 mg จนถึง 30 mg พบว่าร้อยละการติดฉลากจะเพิ่มขึ้นจาก 5 mg ถึง 20 mg และลดลงเมื่อเป็น 30 mg ดังรูปที่ 5

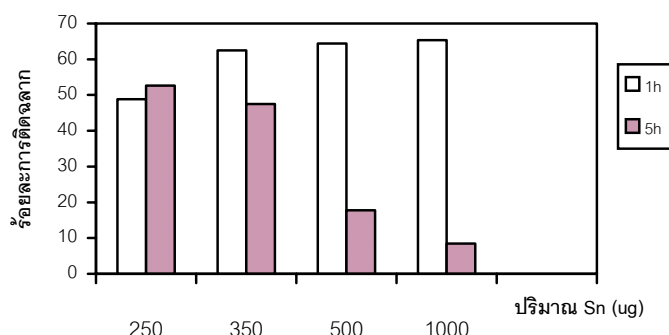


รูปที่ 5 ผลของปริมาณ tricine ต่อร้อยละการติดฉลาก สภาวะในการติดฉลาก: Hynic-lanreotide 5 μ g, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1 mg (100 μ l), tricine ละลายใน 0.025M succinate buffer pH 5.5 เข้มข้น 100 mg/ml, ReO_4^- 2mCi/ 250 μ l incubate 70 $^\circ\text{C}$ นาน 60 นาที

3.4 ผลของปริมาณ reductant agent ต่อร้อยละการติดฉลาก

เมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณของ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ตั้งแต่ 250 μ g, 350 μ g, 500 μ g, จนถึง 1 mg พบว่าร้อยละการติดฉลากจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เพิ่มขึ้น แต่เมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานขึ้น พบว่าปริมาณ

$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ยิ่งมากทำให้ร้อยละการติดฉลากลดลงมากด้วยเช่นกันเนื่องจากเกิดคอลลอยด์มากขึ้นนั่นเอง (ดังรูปที่ 6) ดังนั้นปริมาณ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่เหมาะสมในการเลือกใช้คือ 350 μg



รูปที่ 6 ผลของปริมาณ Sn ต่อร้อยละการติดฉลาก สภาวะในการติดฉลาก : Hynic-lan 5 μg , $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ละลายใน 0.1 N HCl เข้มข้น 10 mg/mL, Tricine 20 mg, ReO_4^- 3 mCi/ 300 μl เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ incubate เช่นเดียวกับในข้อ 3.3

3.5 ผลของปริมาณ Hynic-lanreotide ต่อร้อยละการติดฉลาก

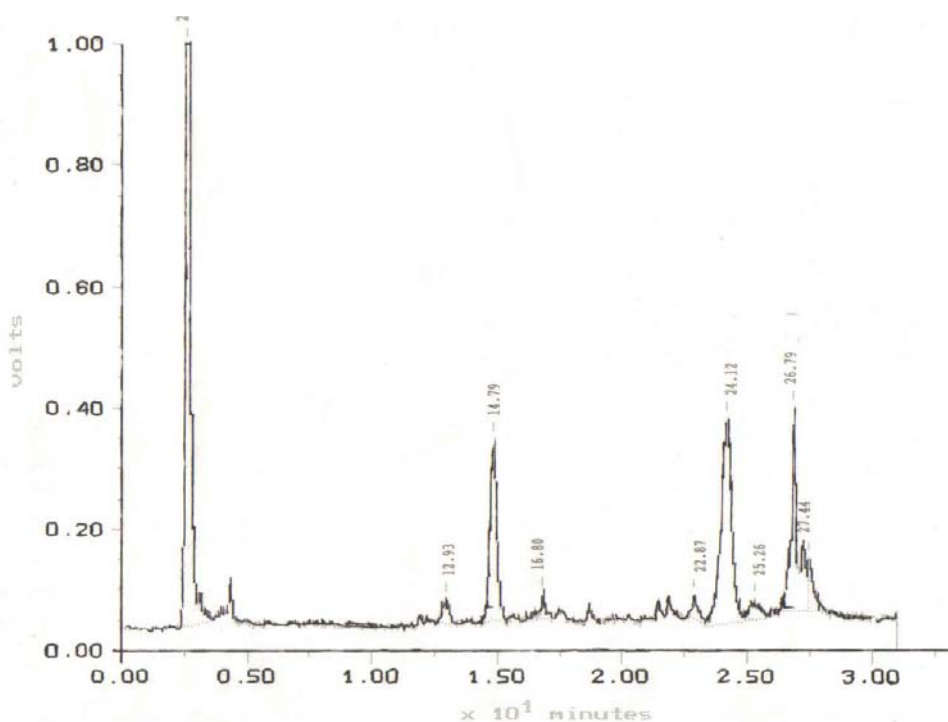
เมื่อเปลี่ยนปริมาณของ Hynic-lanreotide จาก 5 μg เป็น 10 μg พบว่าร้อยละการติดฉลากเพิ่มขึ้น และความคงตัว (stability) ที่อุณหภูมิห้อง ในเวลา 5 ชั่วโมงลดลงประมาณ 27% ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลของปริมาณ Hynic-lanreotide ต่อร้อยละการติดฉลาก สภาวะในการทดลอง 20 mg tricine, 350 μg Sn, 3 mCi ReO_4^- อุณหภูมิ 70 $^{\circ}\text{C}$ นาน 60 นาที

ปริมาณ Hynic-Lanreotide	5 μg	10 μg
ร้อยละการติดฉลาก (1 h)	50.26	61.43
ความคงตัวที่ 5 ชั่วโมง	36.43 (-27.52%)	44.78 (-27.10%)

เมื่อนำสารติดฉลากมาฉีด HPLC พบว่าเกิดไอโซเมอร์ของสารเชิงซ้อน ^{188}Re -Hynic-Lanreotide สามชนิดด้วยกัน (รูปที่ 7) คือ ที่ Rt 14.79 นาที (ประมาณ 30% B) และที่ 24.16 นาที กับ 26.79 นาที (ประมาณ 70 %B) ดังนั้นจึงต้องมีการ purified สารติดฉลาก ^{188}Re -Hynic-Lanreotide ให้มีจำนวนไอโซเมอร์น้อยลงโดย

ใช้ sep pak C18 cartridge และล้างด้วย 30% ACN ก่อนจึงจะสารเชิงซ้อนอีกสองตัวที่เหลือด้วย 80% ACN ก็จะทำให้ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีของสารติดฉลากมากขึ้นได้ถึง 85-90%



รูปที่ 7 เเรดิโอโครมาโทแกรมของ ^{188}Re -Hynic-Lanreotide จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC

4. สรุปผลการทดลอง

การเตรียมคอนจูเกต Hynic-Lanreotide ในตัวทำละลาย DMF จะให้ร้อยละการคอนจูเกตประมาณ 50% – 70% ขึ้นกับความบริสุทธิ์ของตัวทำละลาย และสภาวะที่เหมาะสมในการติดฉลาก ^{188}Re -Hynic-Lanreotide คือใช้ 10 μg Hynic-Lanreotide, 20 mg tricine ใน 0.025 M succinate buffer pH 5.5, 350 μg Sn, และ ReO_4^- 3 – 10 mCi อุณหภูมิ 70 $^{\circ}\text{C}$ นาน 1 ชั่วโมง จะได้ร้อยละการติดฉลากประมาณ 55 – 65% ซึ่งสามารถทำให้ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีเพิ่มขึ้นได้ถึง 85 - 90% โดยการ purified ด้วย sep pak C18 cartridge จากข้อมูลที่ได้เบื้องต้นแสดงว่าเราสามารถเตรียม ^{188}Re -Hynic-Lanreotide เพื่อใช้เป็นเภสัชรังสีได้เอง ซึ่งพร้อมที่จะนำมาทดสอบผลทางชีววิทยา (bioactivity) ด้านต่าง ๆ ก่อนที่จะนำมาพัฒนาเป็นเภสัชรังสีเพื่อใช้บำบัดรักษาโรคมะเร็งในทางคลินิกต่อไป

5. เอกสารอ้างอิง

1. Mausner LF, and Srivastava SC. 1993; Selection of Radionuclides for Radioimmunotherapy. *Med Phys.* 20(2): 503-509.
2. Arano Y. 2002; Recent Advance in ^{99m}Tc Radiopharmaceuticals. *Annals of Nuclear Medicine.* 16(2): 79-93.
3. Lie S, Edwards DS, and Barrett JA. 1997, ^{99m}Tc Labelling of Highly Potent Small Peptides. *Bioconjugate Chem.* 8: 621-636.
4. Babich JW, and Fischman AJ. 1995; Effect of Co-ligand on the Biodistribution of ^{99m}Tc -Labeled Hydrazino Nicotinic Acid Derivatized Chemotactic Peptides. *Nucl Med Biol.* 22(1): 25-30.
5. Larsen SK, Solomon HF, Caldwell G, Abrams MJ. ^{99m}Tc -tricine: A Useful Precursor Complex for the Radiolabelling of Hydrazinonicotinate Protine Conjugates. *Bioconjugate Chem.* 1995; 6: 635-638.
6. Ono M, Arano Y, Mukai T, Uehara T, Fujioka Y, and Okawa K. 2001; Plasma Protein Binding of ^{99m}Tc -labeled Hydrazino nicotinamide Derivatized Polypeptides and Peptides. *Nucl Med Biol.* 28:155-164.
7. Liu S, Edwards OS, and Harris AR. 1998; A Novel Ternary Ligand System for ^{99m}Tc -labeling of Hydrazino Nicotinamide Modified Biologically Active Molecules Using Imine-N-Containing Heterocycles as Coligands. *Bioconjugate Chem.* 9: 583-595.
8. Ono M, Arano Y, Mukai T, Fujioka Y, Ogawa K, and Uehara T. 2001; ^{99m}Tc -Hynic Derivatized Ternary Ligand Complexes for ^{99m}Tc -labeled Polypeptides with Low In-vivo Protein Binding. *Nucl Med Biol.* 28: 215-224.