



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1767078 B

(45) 授权公告日 2012.01.11

(21) 申请号 200410074923.8

(22) 申请日 1999.12.17

(30) 优先权数据

19990001 1999.01.04 NO

(62) 分案原申请数据

99816102.0 1999.12.17

(73) 专利权人 抗癌治疗发明公司

地址 挪威奥斯陆

(72) 发明人 罗伊·H·拉森 杰芒德·亨里克森

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 赵仁临 张平元

(51) Int. Cl.

G21G 4/10 (2006.01)

A61K 51/00 (2006.01)

(56) 对比文件

US 5809394 A, 1998.09.15, 全文.

WO 9309816 A1, 1993.05.27, 全文.

审查员 杨莉莎

权利要求书 1 页 说明书 11 页

(54) 发明名称

制备镭-223 的方法、生理学上可接受的制剂
和试剂盒

(57) 摘要

本发明描述了用于治疗钙化肿瘤, 骨肿瘤, 治疗骨骼、骨骼表面和软组织的镭 223 的制备方法、制备的溶液以及用途。

1. 用于体内给药的生理学可接受的制剂,其特征在于除了药理学上可接受的载体和助剂之外,包括溶解的镭-223 盐,其中含有或者不含有单个阳离子或几个阳离子的组合作为稳定碱土金属阳离子类似物载体,含有或者不含有预防沉淀和 / 或胶体产生的一种试剂。

2. 根据权利要求 1 的制剂,其特征在于作为稳定碱土金属阳离子的阳离子选自镁、钙和锶。

3. 根据权利要求 1 或 2 的制剂,其特征在于预防沉淀和 / 或胶体产生的试剂是羧酸或羧酸的组合。

4. 根据权利要求 3 的制剂,其特征在于羧酸选自草酸、草酰乙酸、酒石酸、琥珀酸、苹果酸和丙二酸。

5. 根据权利要求 1 的制剂,其特征在于该制剂制成用于注射、输液或摄取,或其结合的剂型。

制备镭-223 的方法、生理学上可接受的制剂和试剂盒

[0001] 本申请是申请日为 1999 年 12 月 17 日、申请号为 99816102.0、题目为“镭-223 在制备用于治疗影响骨的疾病的药物中的用途”的分案申请。

[0002] 本发明涉及制备和使用“钙类似物”碱土放射性核素镭-223 用于对准钙化组织例如骨以及包含 ^{223}Ra 的生理学上可接受的溶液。

[0003] 生物医学上使用放射性核素用于缓解疼痛和 / 或治疗癌症, 包括骨表面的预防性治疗以减慢 / 灭活未被发现的转移, 以前是基于 β -放射体和转换电子放射体。

[0004] 相当百分比的癌症病人受骨骼转移的影响。多至 85% 患有晚期肺癌、前列腺癌和乳腺癌的病人发展成骨的转移 (Garret, 1993; Nielsen 等人, 1991)。已确立的治疗例如激素治疗、化学疗法和外部放射疗法常常引起暂时的反应, 但是最终大多数骨癌病人经历复发 (Kanis, 1995)。因此强烈需要新的治疗方法以减轻疼痛和减慢肿瘤的发展。对准骨的放射性同位素已经包括在用于治疗骨癌的临床试验中 (De Klerk 等人, 1992, Fossa 等人, 1992, Lee 等人, 1996, Silberstein, 1996)。这些放射性药物基于 β -粒子放射体 (Atkins, 1998), 近来也基于转换电子放射体 (Atkins 等人, 1995)。迄今为止经美国食品和药物管理局批准的这些化合物中有锶-89 (MetastronTM) 和 ^{153}Sm EDTMP (LexidronamTM)。锶-89 化合物仅仅能够以足以缓解疼痛的量用药, 不能用于肿瘤治疗, 因为在能够达到有效的抗肿瘤治疗剂量程度之前将会发生显著的骨髓中毒性 (Silberman, 1996)。

[0005] 最近, 一个发明人写作一本书 (Larsen 等人, 1999), 其中通过放射剂量测定法表明 α -放射体作为亲骨物质比 β 放射体更有利。即当放射源位于骨表面时, 较短射程的 α -放射体引起较少骨髓辐射。在该研究中将两个 α -放射二膦酸酯骨探查剂与两个具有相似的化学结构和骨亲合力的 β -放射化合物相比较。剂量测定法的计算表明, 在小鼠中, α -放射体与 β -放射体相比骨表面与骨髓剂量比大约高 3 倍。这表明 α -放射骨探查剂也许比放射 β 粒子-和 / 或放射电子化合物更具有优点, 因为辐射剂量能够更强地浓缩至骨表面上。因为短半衰期 ($t_{1/2} = 7.2\text{h}$) 以及由于其生产限于全世界仅仅少数地方, 碲-211 目前在大规模的市场中尚不能得到。

[0006] 除碲-211 之外只有少数放射 α -粒子的放射性同位素目前被考虑可用于生物医学应用中 (Feinendegen 等人, 1997)。铅-212/ 铋-212 体系以前已经用于制备骨探查剂。与乙二胺-四(亚甲基膦酸) (EDTMP) 或 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四(亚甲基膦酸) (DOTMP) 配合的铋-212 显示了显著的骨亲合力。但是由于铋-212 的短半衰期 ($t_{1/2} = 60.6\text{min}$), 在放射性药物的摄入阶段中正常组织的辐射将相当多 (Hassfjell 等人, 1994, 1997)。与另一个考虑作为生物医学用途的 α -放射铋同位素铋-213 ($t_{1/2} = 46\text{min}$) 相比这将更显著。已经尝试使用 β -放射体铅-212 ($t_{1/2} = 10.6\text{h}$) 作为 ^{212}Bi 的体内发生器。然而, 观察到影响高肾积聚的 α -放射体的显著易位 (Hassfjell 等人, 1997)。其他可能用于生物医学应用的 α -放射放射性同位素是镭同位素 224 和 226。如同其他的 11 簇碱土金属一样, 阳离子状态的镭是天然的骨探查剂。

[0007] 以前已经研究过镭同位素 224 和 226, 部分是因为它们的骨亲合力 (Loyd 等人, 1982, 1991; Muggenburg 等人, 1996, Tiller, 1971; Raabe 等人, 1993; Rundo, 1978)。由于其

长半衰期(1600 年)以及其稀有气体氡-222 子体($t_{1/2} = 3.8$ 天),镭-226 不被考虑可用于靶的放射性核素治疗。由于其化学性质,氡在体内条件下对于化学键合是惰性的。当它产生自母核衰变时,因此能够迅速地在体内易位(Rundo,1978)。吸入的氡主要溶于体液以及脂肪中并且主要通过呼气从体内除去(Rundo,1978)。在使用骨样品的实验中,Lloyd 和 Bruenger(1991)报导了在将镭-226 给药于狗之后,89.5-94.25%的氡-222 从骨中逸出。与镭-226 相反,镭-224 具有似乎很适合生物医学应用的半衰期($t_{1/2} = 3.64$ 天)。 ^{224}Ra 在医学上被使用多年以治疗强直性脊柱炎(Delikan,1978)。令人遗憾的是,也有显著部份的镭-224 的子体同位素从骨中逸出,大概主要由于氡-220($t_{1/2}$ 为 55.6s)子体(Lloyd 等人,1982;Miiller 等人,1971;Rundo,1978)。

[0008] 因此从早先的研究中知道当将镭同位素 ^{224}Ra 和 ^{226}Ra 结合到骨中时,它们的氡子体发生显著的易位,这至少能够部分地解释这两个镭同位素的已知的致癌效果。这可能是为什么在临床上 α -放射体没有被评估作为治疗骨癌的骨探查放射性药物的一个原因。

[0009] 本发明的目的在于提供可用作药剂的骨探查放射性核素,表明来自其蜕变的放射性衰变产物在其结合到骨中之后没有显著地易位(至少在给药 3 天之后有效)。

[0010] 本发明人显著和有点料想不到的发现,根据骨中定位的 ^{223}Ra ,发生了极少的氡子体(以及来自衰变链的其他的放射性核素)的易位。因此, ^{223}Ra 系列可以用来照射骨表面,而没有任何显著的放射性核素的易位(包括扩散至骨髓)。此外镭-223,更应该适合作为骨探查的放射性药物,因为其半衰期(11.4 天)大约是 ^{224}Ra 的三倍,这使在发生衰变之前更深地结合到骨表面的基质中。同样,也许更重要的是,氡子体氡-219 具有短的半衰期(3.9 秒),在氡阶段或作为氡阶段结果其应该减少易位。在 ^{223}Ra 和子体核素衰变过程中放射的四个 α -粒子中的三个直接地在 ^{223}Ra 蜕变后立即放射出(Seelman-Eggebert 等人,1981),即作为在 ^{223}Ra 后面初期的三种蜕变,3.9 秒 ^{219}Rn α 衰变是具有最长的半衰期的一个(表 1)。 ^{223}Ra 链中的最后的 α -放射体, ^{211}Bi ($t_{1/2} = 2.15$ 分钟)跟随 β -放射体铅-211 的衰变($t_{1/2} = 36.1$ 分钟),因此也许显示一些易位。然而,如果前体铅-211 被截留在骨基质之内, ^{223}Ra 系列中的最后的 α -粒子也可能传送到骨表面区域。另外 α -粒子具有高线性能量传递(高-LET)辐射,也就是说对于哺乳动物细胞具有极端地细胞毒性(Hall,1994;Ritter 等人,1977)。定位在靶组织中的放射 α -粒子的辐射源能够将辐射传送至较小靶区,因此与 β -放射体相比降低了正常组织的辐射。

[0011] 本发明提供了

[0012] (1) 制备用于生物医学用途的镭-223 的方法,其特征在于将母体核素装载在含有在无机基质上的 AC-树脂的发生器柱子上,或包括在液/液提取体系中使用 AC-树脂的步骤。

[0013] (2) 根据项(1)的方法,其特征在于发生器柱子中含有在硅石基质上的甲烷双膦酸衍生物以及在液/液提取步骤中一种或多种 P,P' 二酯化的亚甲基双膦酸衍生物或其组合被用作相转移剂。

[0014] (3) 根据项(2)的方法,其特征在于发生器柱子中含有在硅石基质上的 P,P' 二辛基甲烷双膦酸以及在液/液提取步骤中 P,P' 二辛基亚甲基双膦酸或 P,P' 二(2-乙基己基)甲烷双膦酸或其组合被用作相转移剂。

[0015] (4) 根据权利要求(1)-(3)的方法,其特征在于发生器柱子中含有中和之后得到

生理学相容的它们盐溶液的无机酸,优选硝酸或盐酸,以及在液/液提取步骤中使用含有无机酸、优选硝酸或盐酸的水相。

[0016] (5) 根据权利要求(4)的方法,其特征在于所述柱子中无机酸的浓度为0.01M-8M,优选0.1M-2M,更优选0.5M-1M,以及液/液提取中无机酸的浓度为0.01M-8M,优选0.1M-2M,更优选0.8M-1.5M。

[0017] (6) 用于体内给药的生理学上可接受的制剂,其特征在于除了药理学上可接受的载体和助剂之外,包括对准骨溶解的镭-223盐,其中含有或者不含有单个阳离子或几个阳离子的组合作为稳定碱土金属阳离子类似物载体,含有或者不含有预防沉淀和/或胶体产生的一种试剂。

[0018] (7) 根据项(6)的制剂,其特征在于作为稳定碱土金属阳离子的阳离子选自镁、钙和锶。

[0019] (8) 根据项(6)-(7)的制剂,其特征在于预防沉淀和/或胶体产生的试剂是羧酸或羧酸的组合。

[0020] (9) 根据权利要求(8)的制剂,其特征在于羧酸选自草酸、草酰乙酸、酒石酸、琥珀酸、苹果酸和丙二酸。

[0021] (10) 根据项(4)-(6)的制剂,其特征在于该制剂制成用于注射、输液或摄取,或其结合的剂型。

[0022] (11) 镭-223制备用于治疗害病的骨骼和骨骼表面的具有药学活性制剂的用途。

[0023] (12) 根据项(11)的用途,其中该制剂用于与另一个治疗活性组分的结合治疗,例如包括双膦酸酯的化学疗法、手术、外部光束照射、放出探查骨骼的放射性药物的低-LET辐射和激素治疗。

[0024] (13) 根据项(11)-(12)的用途,其中含有对准骨的溶解的镭-223盐的制剂用于有关受疾病侵害的骨骼和/或软组织的非恶性和恶性疾病的治疗和/或缓解。

[0025] (14) 根据项(13)的用途,其中恶性疾病选自前列腺癌、乳腺癌、肾和膀胱癌,原发性骨癌、肺癌和多发性骨髓瘤。

[0026] (15) 用于预防或治疗受疾病侵害的哺乳动物骨骼和软组织的非恶性或恶性疾病的方法,其特征在于包括向需要的哺乳动物给药缓和或治疗有效量的根据项(6)-(10)的制剂。

[0027] (16) 根据项(15)的方法,其特征在于向哺乳动物给药预防有效量制剂。

[0028] (17) 根据(14)-(16)的方法,其特征在于哺乳动物是狗或人。

[0029] (18) 试剂盒,其特征在于含有根据项(1)-(5)制备的 ^{223}Ra 、根据项(7)的作为稳定碱土金属阳离子类似物载体的阳离子、和根据项(8)-(9)的防沉淀和/或胶体产生的试剂,药学上可接受的载体和合适的给药设备。

[0030] 本发明涉及制备和使用“钙类似物”碱土放射性核素镭-223用于对准钙化组织例如骨以及包含 ^{223}Ra 的生理学上可接受的溶液。

[0031] 在本专利申请中,本发明人已经发明了 ^{223}Ra 的一种新用途,即作为 α -放射的放射性药物用于对准钙化的组织,例如骨表面和骨瘤损伤。依据放射性核素的性质以及存在于本专利申请中实验的实施例表明,镭-223能够适合作为骨探查放射性药物。例如,本发明可以通过传送集中的剂量至病人的骨表面用作预防性的癌症治疗,该病人很有可能在骨

表面具有未被发现的微小转移瘤。其潜在性用途的另一个例子将是按照类似于以前描述的用于缓和骨疼痛的放射 β 粒子和放射电子的放射性药物的方式治疗疼痛的骨部位。

[0032] 定位在骨表面之上和 / 或钙化肿瘤中的镭 -223 能够与其子体核素一起传送强和高局剂量量的 α - 粒子, 其与目前使用的放射 β 粒子和 / 或放射电子的放射性药物相比具有较少骨髓剂量。骨骼的疾病例如原发性或转移性的骨癌可以用 ^{223}Ra 放射性药物治疗。

[0033] 本发明包括使用核素作为阳离子种类和 / 或与螯合剂或对钙化组织具有亲合力的另一种形式的载体分子结合。这也包括, 但是不局限于镭 -223 与能够随后连接至对钙化组织具有亲合力分子的螯合剂的结合。本目的在于使用放射性同位素在骨表面上和 / 或钙化肿瘤中产生级联的 α - 粒子用于缓和由不同的疾病所引起的疼痛和 / 或用于预防可能最小的骨骼疾病, 和 / 或也用于确定的骨癌的治疗。能够使用放射性同位素的疾病包括, 但是不局限于前列腺癌、乳腺癌、肾癌和肺癌的骨骼的转移以及原发性骨癌和多发性骨髓瘤。

[0034] 制备镭 -223 溶液用于对准钙化组织或用于骨表面照射。下列例子显示 ^{223}Ra 在骨中具有高的和选择性的吸收, 其中极少的子体核素再定位。这表明骨表面能够消毒以灭活用显微镜可见的沉积的癌细胞以及钙化的癌的损伤能够用该同位素照射用于缓和或者治疗。该化合物不同于具有骨亲合力的其他常用放射性药物, 因为主要的剂量组分来自 α - 粒子, 其与经常使用的 β 和电子放射体相比具有更窄的范围。因此传送到红骨髓的剂量能够用这种新化合物显著地降低, 即骨髓中毒性可能被降低。镭 -223 不同于以前使用的医用放射性核素镭 -224 如下: (1) ^{223}Ra 具有显著长的半衰期, 较好地影响骨与软组织比率, 因为在发生衰变之前显著大量的这种同位素部份将从该软组织中被除去。(2) 当进行骨合成之时较长的半衰期也使放射性核素深深地结合至骨表面, 由于化学的扩散和核的反冲可能提高了否则会易位的子体同位素的保留。(3) 与来自 ^{224}Ra 的 ^{220}Rn 相比来自 ^{223}Ra 的较短的半衰期的 ^{219}Rn , 确保了来自 ^{223}Ra 系列的子体核素较少的易位。

[0035] ^{223}Ra 盐或其衍生物将通过全部有效的给药途经例如口服、皮下、静脉内、动脉内或经皮给药需要的哺乳动物例如人。该活性化合物优选通过注射或输液给药。

[0036] 通过使用片剂、胶囊剂、粉剂或液体形式例如悬浮液、溶液、糖浆或乳剂进行口服。当制成片剂时使用传统的赋形剂 (excipients)、润滑剂和粘合剂。当以液体的方式给药时使用传统的液体载体。当以注射或或输液溶液的方式给药时, 载体优选为等渗盐水, 其中含有或不含有以稳定镭阳离子预防镭盐或不溶的络合物沉淀的试剂。

[0037] 能够使用本发明的有效成分用于受疾病侵害的骨和软组织的非恶性和恶性疾病的预防、缓和和治疗。恶性疾病选自前列腺癌、乳腺癌、肾癌和膀胱癌 (uninary cancer)、原发性骨癌、肺癌和多发性骨髓瘤, 非恶性疾病选自影响关节和骨骼的自身免疫疾病例如类风湿性关节炎、schleroderma 和脊椎关节病。

[0038] 根据本发明用于体内给药的生理学上可接受的制剂, 除了药理学上可接受的载体和助剂之外, 包括溶解的镭 -223 盐, 其中含有或者不含有单个阳离子或几个阳离子的结合, 作为稳定碱土金属阳离子类似物载体, 含有或者不含有的一种试剂以预防沉淀和 / 或胶体的产生。作为稳定碱土金属阳离子的阳离子可选自镁、钙和锶。此外, 预防沉淀和 / 或胶体产生的试剂为羧酸或羧酸的组合, 例如草酸、草酰乙酸、酒石酸、琥珀酸、苹果酸和丙二酸。制剂中化合物的浓度通常小于个体 LD50 剂量, 例如小于 20% 的 LD50 剂量, 因此对于不

同的组分会有变化。以单剂量或多剂量方式给哺乳动物例如人用药时， ^{223}Ra 的活性取决于给药的类型和途径以及基本病情或疾病，在约 50KBq-10MBq 之间变化。

[0039] 此外根据本发明镭-223 用于生产药学活性制剂以缓和以及治疗影响骨、骨表面以及软组织的非恶性和恶性疾病。该制剂以缓和或治疗地有效量给药于需要其的哺乳动物例如人或动物如狗。

[0040] 根据本发明镭-223 可被用于结合治疗，其中 ^{223}Ra 制剂与下列种类的治疗结合；包括二膦酸酯的化学疗法、手术、外部光束照射、放出骨探查的放射性药物的低 LET 辐射以及激素治疗。

[0041] 此外本发明涉及试剂盒，包括根据本发明方法生产的 ^{223}Ra 、作为稳定碱土金属阳离子类似物载体相应的阳离子以及预防沉淀和 / 或胶体产生的试剂，药学上可接受的载体以及适合的给药设备。

[0042] 在下文中通过实施例详细描述本发明，其决不是用来限制如附上权利要求所述的本发明的范围。

[0043] 表 1 给出了镭-223 及其子体核素的物理特性 (Ekstrom 等人, 1989)。 ^{223}Ra 及其子体的衰变引起四个 α -粒子的发射。这种级联的 α -粒子能够传送大辐射剂量至有限的体积中。因此与大多数 α -放射体相比，镭-223 也具有极度的细胞毒性 (Howell 等人, 1997)。

[0044] 如下显示了镭-223 及其子体衰变系列 (括号中表示半衰期和衰变方式)：

[0045] $^{223}\text{Ra}(11.4\text{d.}, \alpha) \Rightarrow ^{219}\text{Rn}(3.9\text{s.}, \alpha) \Rightarrow ^{215}\text{Po}(1.8\text{ms.}, \alpha) \Rightarrow \text{Pb}(36, 1\text{min.}, \text{B-}) \Rightarrow ^{211}\text{Bi}(2.15\text{min.}, \alpha) ^{207}\text{Tl}(4,8\text{min.}, \text{B-}) \Rightarrow ^{207}\text{Pb}(\text{稳定的})$

[0046] 表 1 ^{223}Ra 和子体的放射*。

[0047]

核素	^{223}Ra	^{219}Rn	^{215}Po	^{211}Pb	^{211}Bi	^{207}Tl
α -能量	5.64MeV	6.75MeV	7.39MeV		6.55MeV	
β -能量 (最大)				0.47MeV		0.47MeV
能量分数	0.207	0.248	0.271	≤ 0.017	0.24	≤ 0.017

[0048] * 数据来自 Seelmann-Eggebert 等人, 1981 和 Ekström 等人, 1989

[0049] # 相对整个衰变链的总的发射能量。

[0050] 与 ^{223}Ra 和子体整个衰变有关的发射辐射的结合能： $\sim 27.5\text{MeV}$

[0051] 以 α -粒子的形式放射的能量部份： $> 96\%$

[0052] 以 β -粒子的形式放射的能量部份： $< 3\%$

[0053] 在衰变过程中也放射一些 γ 辐射 (总计 $< 0.3\text{MeV}$) 并且可用于使用 γ 波谱学决定样品中同位素的数量和质量。例如镭-223 在 154.19keV 有一特征 γ 峰 (5.59% 丰度)，氡-219 在 401.78keV 有一峰 (6.6%) 以及铋-211 有一 351.0keV 峰 (12.8%) (Ekstrom 等人, 1989)。这些可用于决定子体同位素是否在体内发生重分布。 ^{223}Ra 也有一 269.41keV 峰，丰度为 13.6%，但是这很难区别于 ^{219}Rn 的丰度为 9.9% 的 271.23keV 峰。

[0054] 现在已经描述了镭-223 的制备方法 (Atcher 等人, 1989; Howell 等人, 1997)。镭

是天然放射族中的一员,来源于 $U(t_{1/2} = 7 \times 10^8 \text{y})$ 经 $^{231}\text{Th}(t_{1/2} = 25.6 \text{y.})$ 以及顺序 $^{231}\text{Th} \rightarrow ^{231}\text{Pa}(t_{1/2} = 3.3 \times 10^4 \text{y.}) \rightarrow ^{227}\text{Ac}(t_{1/2} = 21.7 \text{y.}) \rightarrow ^{227}\text{Th}(t_{1/2} = 18.7 \text{d.}) \rightarrow ^{223}\text{Ra}(11.4 \text{d.})$ 。Atcher 等人 (1989) 使用阳离子交换体系 (Bio-rad AG 50) 从 ^{227}Ac 生成 ^{223}Ra 。Howell 等人 (1997) 使用 $^{226}\text{Ra}(n, r)^{227}\text{Ra}$ 核反应生成 ^{223}Ra 。 $^{227}\text{Ra}(t_{1/2} = 42 \text{min})$ 快速地变成 $^{227}\text{Ac}(t_{1/2} = 21.77 \text{年})$, 其可以通过不同的方法从 ^{226}Ra 靶物中分离。Howell 等人 (1997) 用化学方法从靶溶液中分离 ^{227}Ac 。然后 ^{227}Ac 与其子体产物一起转移到保留 ^{227}Th 的阴离子交换柱中, 同时洗脱该核素的母体和子体。十天后能够从离子交换柱中洗脱出 ^{223}Ra 。如果通过利用发生器原理制备临床批量, 应用基于有机主链的离子交换柱也许是亚最佳的, 因为辐射分解可以防止基于这类材料镭发生器的长期综合利用 (Atcher 等人, 1989)。

[0055] 最近已经开发新型材料, 并且现在市场上能买到, 其可用于锕系元素放射性核素的分离 (f- 元素对碱土元素的选择性)。这些是基于共价键合活性基团或掺杂活性基团的硅石微粒。可以使用该材料制备柱子使得在能够保留其他元素的条件下洗脱出一些元素。也可能使用活性基团用于采用有机和水相的湿 / 湿法提取体系中的分离。

[0056] 实施例

[0057] 在下面的实施例 1 中制备了 ^{223}Ra 。本发明制备用于生物医学应用的 ^{223}Ra 的新方法包括无机基质柱和液 / 液体系。含有在无机基质上的甲烷双膦酸衍生物的发生器柱或所述方法也可以包括液 / 液提取操作步骤, 其中一个或多个 P, P' 二酯化的亚甲基双膦酸衍生物用作相转移剂。

[0058] 在该方法中发生器柱含有在硅石基质上的 P, P' 二辛基甲烷双膦酸以及液 / 液提取操作是使用 P, P' 二辛基亚甲基双膦酸或 P, P' 二 (2- 乙基己基) 甲烷双膦酸或其结合作为相转移剂。关于发生器柱的操作通过使用在中和之后能够得到生理学上相容的它们盐的溶液的无机酸、优选硝酸或氢氯酸进行。所述的无机酸的浓度在 0.01-8M 范围之内, 更优选在 0.1-2M 之间, 最优选在 0.5-1M 之间。使用含有无机酸、优选硝酸或盐酸的水相进行液 / 液提取步骤, 酸浓度在 0.01-8M 范围之内, 更优选在 0.1-2M 之间, 最优选在 0.8-1.5M 之间。

[0059] 实施例 1

[0060] 通过使用 f- 元素选择提取的色谱树脂从 27 年以前制备的 ^{231}Pa 源 (样品由挪威奥斯陆大学, 化学系, 放射化学组提供) 中分离 ^{227}Ac 和 ^{227}Th 。提纯的 ^{227}Ac 和 ^{227}Th 随后吸附在另一种 f- 元素选择提取的色谱树脂之上并且用作 ^{223}Ra 的母牛。后者材料已经被吴等人 (1997) 用于建造基于 ^{225}Ac 的 ^{213}Bi 发生器。

[0061] 方法: 用 1M HCl 将在 5M H_2SO_4 和 1M HF 水溶液中的 ^{231}Pa 放射源 (含有子体) 的样品稀释 10 倍。将该溶液装载在内径 3 毫米和长度 70 毫米并含有用 1M HCl 预平衡过的 TRU- 树脂 (EiChroM 工业, Darien, IL, 美国) 的柱子上。 ^{231}Pa 保留在柱子上, 而 ^{227}Ac 、 ^{227}Th 和 ^{223}Ra 则部分通过装入操作洗脱以及部分通过用另外的 10 毫升 1M HCl 洗涤柱子来洗脱。在这以后通过使用 Wu 等人描述的装柱技术的改进法来制备 ^{223}Ra 发生器 (1997)。制备并且用 1M HCl 事先处理 3x50 毫米硅石锕系元素树脂柱子 (EiChroM, Darien, IL, 美国), 该柱子由直径在 20-50 μm 范围内硅石微粒上的 P, P' 二辛基甲烷双膦酸 (DIPEX, EiChroMEiChroM 工业, Darien, IL, 美国) 组成。然后从该柱子中除去大约一半的树脂然后与来自 TRU- 树脂柱的洗脱液混合。

[0062] 其后将含有 ^{227}Ac 、 ^{227}Th 和 ^{223}Ra 的洗脱液装载在 3 毫米内径和 50 毫米长的柱子中, 该柱子含有 30–50 μm 硅石 (EiCroM 工业, Darien IL, 美国) 上的铜系元素-树脂 (Ac- 树脂)。简要地说, 根据 Wu 等人的方法制备该柱子。(1997)。在用 1M HCl 事先处理柱子之后, 一半的物质被除去然后与来自在前步骤的洗脱液混合。

[0063] 在室温下缓和搅拌 4 小时之后, 将含有放射性核素的浆液装载在该柱子中。最后, 用 5 毫升 1M HCl 洗涤该柱子。该柱子中保留了 ^{227}Ac 和 ^{227}Th , 而 ^{223}Ra 可以用几毫升 HCl 或者 HNO_3 洗脱, 其母体和祖母体放射性核素没有任何显著的漏出。如果希望的话, 可以加入随后的纯化步骤, 即通过第二 AC- 树脂柱简单地洗脱 ^{223}Ra 洗脱液以除去任何微量的母体和祖母体核素。

[0064] 含有 ^{223}Ra 的 HCl 溶液可以在缓冲器中稀释、无菌过滤然后照这样使用。另外, 纯化的 ^{223}Ra 可以在使用之前被浓缩, 即通过将 HCl 溶液装载在 2 毫米内径和 25 毫米长的含有树脂例如 AG 50W-X4-16 (Bio-Rad, Richmond, CA, 美国) 的柱子中。其后 ^{223}Ra 可以通过少量体积的 6M HNO_3 几乎被定量地洗脱。其后 HNO_3 可以被蒸发, 残余物可以再溶解在溶液中, 随后被无菌过滤。

[0065] 使用与来自 EG & G Ortec (Oak Ridge, TN, 美国) 用于 γ 液谱学的放大器和偏压器相结合的锗-检测器和 / 或者与用于 α 波谱学的 EG & G Ortec 相结合的 Canberra (型号 7404 0 1 A) 进行放射性数量和质量的测量。

[0066] 结果: 在 TRU 树脂柱中, ^{231}Pa 被定量地保留, 即与子体放射性相比该漏出小于检测极限的 0.5%。90% 以上的 ^{227}Ac 和 ^{227}Th 收集在来自 TRU 树脂的洗脱液中。对于 AC- 树脂, 多次的实验显示在柱子 (也称为母牛或发生器) 中在最初几毫升的汽提溶液中每 100kBq ^{227}Th 一般产生 60–85 kBq ^{223}Ra 。与 ^{223}Ra 相比 ^{227}Ac 和 ^{227}Th 的漏出经测定小于 (受到检测能力的限制) $4 \times 10^{-3}\%$ 。应该注意, 所述的分离方法也可以和由 ^{226}Ra 经 $^{226}\text{Ra}(\text{n}, \gamma)^{227}\text{Ra} \rightarrow ^{227}\text{Ac}$ 生成的 ^{227}Ac 一起使用。

[0067] 结论: 描述了一组方法用于制备确保可用于生物学应用的高产率和高纯度的 ^{223}Ra 。其区别在于由 ^{227}Ac 常规制备临床上相关的放射性级的 ^{223}Ra 更容易。该方法使用基于硅石基质的发生器柱子进行 (Wu 等人, 1997), 而先前存在的方法包括更多含有有机基质的对辐射分解敏感的离子交换树脂 (Atcher 等人, 1989)。

[0068] 实施例 2

[0069] 研究了如实施例 1 中所述方法制备的镭-223 的生物分布。

[0070] 方法: 用含 9kBq ^{223}Ra 的 150 μl 等渗盐水给体重为 19–21 克的幼少的雄性 Balb/C 小鼠注射。每组 5 只动物, 在注射后的 6 小时和 3 天将各组动物处死并解剖。测量样品的重量, 使用 (A) 与 Scaler 计时器 ST7 (NE 技术有限公司, Reading, 英国) 相结合的 well 型 NaI 闪烁晶体 (Harshaw Chemie BV, De Meern, Holland) 数字装置, (B) Beckman LS 6500 (Beckman 仪器公司 Fullerton, CA, 美国) 计数样品。使用与来自 EG & G Ortec (Oak Ridge, TN, 美国) 放大器和偏压器相结合的锗-检测器 (Canberra, Meriden, CT, 美国) 研究在血、肝、肾和标准样品中母体 / 子体处于平衡时放射性核素的相对丰度。

[0071] 结果: 该生物分布数据列于表 2 中。数据显示与软组织相比 ^{223}Ra 在骨中被有选择地浓缩。而注射后的 6 小时和 3 天之间所有软组织值减少, 骨值随时间而增加。自 6 小时到 3 天起股骨与血的比例从 129 增加到 691。脾中含有的软组织中具有测量的最高的保留

值,但是在注射后 6 小时和 3 天之间股骨与脾的比例也随时间从 6.4 增加到 23.7。

[0072] 表 2 镭-223 在 Balb/C 小鼠中的生物分布,表示为每克的注射剂量%

[0073]

组织	6 小时	3 天
股骨	25.86 ± 1.99	34.55 ± 7.87
血	0.20 ± 0.23	0.05 ± 0.10
肾	4.04 ± 0.33	0.38 ± 0.08
肝	0.89 ± 0.18	0.22 ± 0.32
肺	0.59 ± 0.56	0.06 ± 0.07
肌肉	0.72 ± 0.39	0.30 ± 0.16
心脏	0.10 ± 0.10	0.06 ± 0.07
脑	0.04 ± 0.01	0.12 ± 0.12
脾	4.06 ± 1.4	1.46 ± 0.54
小肠	0.79 ± 0.26	0.04 ± 0.03
大肠	2.30 ± 0.60	0.13 ± 0.02

[0074] 根据 γ 波谱学,在骨和大部分的软组织中观察不到由 ^{211}Bi 丰度确定的镭-223 及其子体相对分布的显著差异。在 6 小时点脾中 ^{211}Bi : ^{223}Ra 的比例与标准溶液相比平均为 54%。另一方面,在肝脏和肾中样品中的 ^{211}Bi : ^{223}Ra 比例平均分别为标准的 256 和 207%。这表明在软组织中发生了一些易位。与该核素的骨放射性相比软组织中 ^{211}Bi 放射性一般也非常低。软组织中的 ^{211}Bi 也许已经从存在于软组织中的 ^{223}Ra 产生。

[0075] 结论:由 ^{223}Ra 和子体得到极好的骨与正常组织放射性比例,这表明用该放射性核素系列对准钙化组织的显著的潜能。

[0076] 实施例 3

[0077] 为了检验骨样品中的镭-223 和铋-211 之间是否会出现放射性同位素保留的差异,研究了骨对含有处于平衡的 ^{223}Ra 和子体放射性核查的标准溶液的 γ 波谱数据。

[0078] 方法:在该动物死亡和解剖之后直接地在小鼠股骨的样品上用锗检测器(Canberra, Meriden, CT, 美国)进行 γ 波谱分析。研究了处于平衡的 ^{223}Ra 和子体放射性核素的标准溶液的样品。使用在 351.0keV(^{211}Bi) 和 154.2keV(^{223}Ra) 处明显的 γ 峰。定位指数(LI)被定义如下:

$$[0079] \quad \text{LI} = (\text{B}_{\text{Bi}}/\text{S}_{\text{Bi}}) / (\text{B}_{\text{Ra}}/\text{S}_{\text{Ra}})$$

[0080] 例如, B_{Bi} - ^{211}Bi 在骨中的计数率; S_{Ra} - ^{223}Ra 的标准计数率

[0081] 使用 Student t- 测试数据柱子将来自 6 小时组和 3 天组的五个样品的 γ 波谱分

别与来自标准溶液的五個和三个样品进行比较。

[0082] 结果:在6小时点的LI值平均为0.85($P = 0.059$),在3天点的LI值平均为0.97($P = 0.749$)。然而,相对于数据组 $P = 0.05$ 的水平差异不显著。

[0083] 结论:即使对于代表 ^{223}Ra 、 ^{211}Pb - 蜕变系列中第四个蜕变的放射性核素来说,骨中的保留值与 ^{223}Ra 相似。

[0084] 实施例 4

[0085] 为了研究在 ^{223}Ra 被吸收在骨中之后子体同位素有潜力的释放,由于核的反冲或者扩散过程,检验注射后 6 小时被杀死的五个动物和 3 天被杀死的五个动物的股骨。

[0086] 方法:为了照射使红骨髓(spongiuous)区域,将骨纵向劈开,其后切成小于 3 毫克的小碎片。其后使用离心法用 Dulbeccos PBS(Sigma-Aldrich CO.LTD., Irvine, 英国)洗涤样品。除去上层清液,与闪烁液混合(外加 Insta-Gel11, Packard BioScience BV, Groningen, 荷兰),然后在闪烁计数器(Beckman 仪器公司, Fullerton, CA, 美国)上计数。一天之后重复计算样品。在校正两次测量之间 ^{223}Ra 衰变之后计数的差异被用作表示子体核素从骨基质中的释放。

[0087] 结果:6 小时之后被杀死的动物显示了从骨中一些放射性的释放。与骨中的总放射性相比在洗涤过程中平均 1.8% 溶于 PBS。当 12 小时之后再次测定洗涤液时,放射性仅仅平均为骨样品的 0.2%。这表明发生了一些子体同位素的易位但是程度非常小(大概小于子体同位素的 2%)。与洗涤之后洗涤液中的基底相比 3 天之后被杀死的动物没有显示显著的数目。这表明如果发生易位,则低于检测极限,估计小于总骨放射性的 1%。

[0088] 结论:根据从精细粉碎的骨样品中可提取的放射性部分,表明子体核素从骨基质中的释放(易位)对于镭-223 系列来说较低。

[0089] 实施例 5

[0090] 已经研究了具有类似于病人中经常观察到的实验的转移类型的动物模型(Engebraaten 和 Fodstad, 1999)。这些模型中的一个是由心内注射到裸露的大鼠中 MT-1 细胞组成,特征在于在动物中一致地形成了后腿麻痹。用化学治疗剂顺氯氨铂或阿德利亚霉素治疗(接种肿瘤细胞七天之后)没有提高存活率。解剖并且用显微镜检验患肿瘤动物的脊柱显示大量替换正常骨髓并且腐蚀脊柱骨的部分的肿瘤细胞。

[0091] 在上述研究的模型中骨骼的累及使得其适合于证明本发明 ^{223}Ra 针对骨骼转移治疗的潜力。

[0092] 方法:在 MT-1/ 裸露的大鼠模型中研究了镭-223 的治疗潜力,其中通过如所述的那样注射到左心室给动物接种 1×10^6 MT-1 人的乳腺癌细胞(Engebraaten 和 Fodstad, 1999)。这些动物通常发展成由脊柱中肿瘤的生长所引起的麻痹。在七天后通过接受不含有或含有 10 kBq 本发明镭-223 的 200u1 载体溶液的静脉注射处理 4 和 5 个动物的组。

[0093] 结果:仅仅用载体溶液处理的四个动物的组在接种肿瘤细胞之后患有受脊柱中肿瘤生长影响的麻痹并且在 20-25 天之间处死(指 22, 25 天)。在接受含有 ^{223}Ra 载体溶液的五个动物的组中,一个动物在 26 天之后麻痹,一个在 40 天之后麻痹,一个在 64 天之后麻痹,而剩余的两个动物在接种肿瘤细胞之后的 90 天整个实验跟踪时期中存活,没有显示麻痹的迹象。

[0094] 结论: ^{223}Ra 证明在患有骨骼转移的动物中具有显著的抗肿瘤效果。

[0095] 参考文献

- [0096] Atcher RW, Friedman AM, Huizenga JR, Spencer RP. 制备 ^{211}Pb 及其子体的放射性核素发生器, 放射核化学通讯杂志 (J. Radioanal. Nucl. Chem. Letters) 135, 215-221 (1989)。
- [0097] Atkins HL, Mausner LF, Srivastava SC, Meinken GE, Cabahug GE, D' Alessandro T. 用于缓和骨质转移疼痛的锡 -117m(4+)DTPA: 探索性研究, 核医学 (J Nucl Med) 36, 725 (1995)。
- [0098] Atkins HL. 用于缓和骨骼的核素的概述, Appl Radiat Isot 49, 277-283 (1998)。
- [0099] De Klerk, JNM, van Dijk, A., van het Schip, AD, Zonnenberg, BA, 和 van Rijk, 给患有骨骼转移病人给药镱-186-HEDP 之后镱-186 的 PP 药物动力学, 核医学 (J Nucl Med) 33, 646-651 (1992)。
- [0100] Delikan O. 用于治疗强直性脊柱炎的 ^{224}Ra 的制剂, 健康物理学 (HealthPhys) 35, 21-24 (1978)。
- [0101] Ekström L, Spanier R. 用于 IBM PC 和计算机网络访问的 EN SDF 放射性数据库 Dept Of physics, University of Lund, 瑞典 (1989)。
- [0102] Engebraaten, O. 和 Fodstad, Ø. 裸露的大鼠中两个人的乳腺癌细胞系的现场特定的实验转移类型. Int. J Cancer 82(2), 219-225 (1999)
- [0103] Feinendegen LE, McClure JJ. 会议报告, 医学治疗的 α -放射体 - 美国能源部专题研究组, Denver, Colorado, 1996. 5. 30-31, 放射研究 (Radiat. Res.) 148, 195 (1997)。
- [0104] Fossa SD, Paus E, Lochoff M, Melbye R, Backe S, 和 Aas M. 从抗前列腺癌的激素中骨骼转移中的 89 锶: 缓和效果和生化的变化, 英国癌症杂志 Br J Cancer, 66, 177-180 (1992)。
- [0105] Garret R. 癌中骨的破坏, 肿瘤学论文集 (Semin Oncol) 72, 3433-3435 (1993)。
- [0106] Hall EJ. 放射学家的放射学 (Radiology for the radiologist.) 第四版, JBLippincott 公司, Philadelphia, s. 153-164 (1994)。
- [0107] Hassfjell SP, Hoff P, Bruland Ø S, Alstad J. $^{212}\text{Pb}/^{212}\text{Bi}$ EDTMP- 合成和新的骨骼探查的 α -放射放射药剂学的生物分布, 标记化合物与放射药剂杂志 (JLabelled Compds Radiopharm) 34, 717-734 (1994)。
- [0108] Hassfjell, SP, Bruland, Ø S, Hoff, P. ^{212}Bi -DOTMP- 一种用于标记放射疗法放出骨骼探寻剂的 α 粒子. 核医学生物学 (Nucl Med Biol) 24, 231-237 (1997)。
- [0109] Howell RW, Goddu SM, Narra VR, Fisher DR, Schenter RE, Rao DV. 钷 -148 和镭 -223 在小鼠试验中的放射毒性, α 粒子放射体在体内的相对生物效应, 放射研究 (Radiat Res) 147, 342-348 (1997)。
- [0110] Kanis JA. 骨骼和癌症, 转移的病理生理学和 治疗, 骨骼 (Bone) 17, 101s-105s (1995)。
- [0111] Larsen RH, Murud KM, Akabani G, Hoff P, Bruland Ø S, Zalutsky NIR. 具有高体内稳定性和骨骼累积的 ^{211}At - 和 ^{131}I - 标记的双膦酸酯, 核医学 (J Nucl Med) 40, 1197-1203 (1999)。
- [0112] Lee CK, Aeppli DM, Unger J, Boudreau RJ, Levitt SH. 用于缓和和治疗骨转移的氯

化锶-89(Metastron):The University of Minnesota experience,美国临床肿瘤学杂志(Am J Clin Oncol)19,102-107(1996)。

[0113] Lloyd RD, Bruenger FW, Rn:注射 226 镭的小猎犬骨骼中的镭比例。健康物理学(Health Phys.)60,567-568(1991)。

[0114] Lloyd RD, Mays CW, Taylor GN, Atherton DK Bruenger FW, Jones CW. 小猎犬中镭-224 的保留、分布和剂量测定放射研究(Radiat Res)92,280-295(1982)。

[0115] Muggenburg BA, Hahn, FF, Griffith Jr WC, Lloyd RD, Boecker BB. 注射到狗中的镭的生物学效应,放射研究(Radiat Res)146,171-186(1996)。

[0116] Muller WA. 关于小鼠和大鼠中短命的内部 α -放射体的研究 I 部分。 ^{224}Ra , 国际放射生物学与有关物理化学医学研究杂志(Int J Radiat Biol)20,27-38(1971)。

[0117] Nielsen, OS, Munro AJ, Tannock IF. 骨骼转移:病理生理学和管理政策,临床肿瘤学杂志(J Clin Oncol)9,509-524(1991)。

[0118] Raabe OG, Parks NJ. 小猎犬中 Sr-90 和 Ra-226 的骨骼摄取和保留寿命放射研究(Radiat Res)133,204-218(1993)。

[0119] Ritter MA, Cleaver JE, Tobias CA. 高-LET 放射诱导大部分不再接合的 DNA 断裂。自然(Nature),266,653-655(1977)。

[0120] Rundo J. $^{224}\text{Ra}(\text{ThX})$ 及其子体的生物学行为。健康物理学(HealthPhys)35,13-20(1978)。

[0121] Seelmann-Eggebert W, Pfennig G, Munzel H, Klewe-Nebenius H. Nuklidkarte, Kernforschungszentrum Karlsruhe(1981)。

[0122] Silberstein EB. 评论:放射药物治疗疼痛的骨质转移中的剂量和反应 1. 核医学(Nucl. Med.),37,249-252(1996)。

[0123] Wu C, Brechbiel MW, Gansow OA. 一种从 ^{225}Ac 制备 ^{213}Bi 的改进方法, Radiochimica Acta 79,141-145(1997)。