

ESTUDOS PARA A OBTENÇÃO DO RADIOTERÁPICO ^{186}Re -HEDP

Barbara L. Machado, Sônia A. Mestnik, Olga G. de Carvalho, Ana L. V. Lima,
Maria T. Colturato e Emiko Muramoto

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - CNEN / SP
TPI - Supervisão de Produção de Radioisótopos
Travessa R, 400
05508-900, São Paulo, Brasil
e-mail: bmachado@net.ipen.br

RESUMO

Os radionuclídeos emissores de partículas β^- , apresentam grandes perspectivas em oncologia, por possuírem potencial radioterápico e inclusive, como paliativos da dor, causada pela metástase óssea. Como essas partículas possuem penetração pequena, são mais apropriadas em tratamentos de tumores médios e pequenos.

Entre esses radionuclídeos, encontra-se o Rênio-186 obtido em reator nuclear, a partir da reação $^{185}\text{Re} (n, \gamma) ^{186}\text{Re}$, o qual possui as seguintes características nucleares: $E_\gamma=0,137$ MeV e $E_\beta = 1,07$ e $0,93$ MeV e $T_{1/2}=3,7$ dias.

A finalidade desta pesquisa é estudar a metodologia de obtenção do radioterápico ^{186}Re -HEDP (hidroxi-etileno-difosfonato) e seu controle de qualidade.

Após a ativação, o rênio metálico é transformado em ácido perrênico, o qual com a adição de NaOH ou NH_4OH transforma-se no perrenato equivalente.

Na presença de redutor (SnCl_2) e do complexante HEDP e em condições específicas, obtém-se o produto final, ou seja, ^{186}Re -HEDP. Este é então submetido ao controle da pureza radioquímica, radioativa, toxicidade e ao controle biológico em ratos.

Nesta fase do trabalho estudaram-se parâmetros que afetam os rendimentos de marcação, tais como concentrações dos reagentes e pH das soluções, tendo sido empregado, como agente redutor, o SnCl_2 .

Posteriormente, para efeitos comparativos, adicionou-se ácido genticóico ao meio redutor e obtiveram-se melhores rendimentos: $(96 \pm 3)\%$.

INTRODUÇÃO

Os radionuclídeos mais adequados para a terapia paliativa do câncer metastático ósseo, são os emissores β^- de energia média (0,8-1,8 MeV). Esta radiação é suficiente para penetrar os poucos milímetros necessários da superfície óssea (1-5 mm), onde estão localizadas as células malignas, porém esta espessura não é suficiente para comprometer severamente ou irreversivelmente a função da medula óssea.

Os resultados mais efetivos para este tipo de terapia, que se encontram na literatura, são obtidos principalmente com ^{32}P , ^{89}Sr , ^{186}Re e ^{153}Sm . A vantagem destes radionuclídeos e de seus compostos marcados está no fato, de que aproximadamente 50% da radioatividade administrada, deposita-se rapidamente nos ossos e o restante é eliminado em curto tempo por via renal.

Produção de Radionuclídeos. Independente do uso ao qual se destinam os radionuclídeos, estes podem ser produzidos em reatores de pesquisa ou em ciclotrons.

A maior parte dos emissores β^- podem ser produzidos em reatores nucleares com potência média (2-5 Mw) em quantidades significativas, mediante a irradiação de um alvo apropriado com nêutrons. Esta produção é favorecida para aqueles núcleos alvos, que possuem secções eficazes de choque, para captura de nêutrons, relativamente altas.

O alvo mais apropriado para a produção de ^{186}Re é o rênio metálico natural. Para aumentar a atividade específica recorrem-se a alvos enriquecidos no isótopo

estável de interesse. Neste caso, o enriquecimento deve ser superior a 95%, sendo que o inconveniente é o preço alto e pouca disponibilidade.

Reatores com fluxos superiores a 5×10^{13} n.cm⁻².s⁻¹ produzem ¹⁸⁶Re com atividades específicas mais altas, adequadas para a marcação de anticorpos monoclonais. Fluxos da ordem de $2-5 \times 10^{13}$ n.cm⁻².s⁻¹, alvos enriquecidos e períodos de irradiação de 5-7 dias são suficientes para a obtenção de atividades de ¹⁸⁶Re adequadas para marcar compostos polifosfonados.

Considerando-se que o reator instalado no IPEN-CNEN/SP, IEA-R1, opera atualmente com potência de 2 MW, fluxo $\cong 1,0 \times 10^{13}$ n.cm⁻².s⁻¹ e rotineiramente em períodos de 8 horas por dia; obter-se-ão atividades de ¹⁸⁶Re abaixo das desejadas para terapia, porém úteis para o desenvolvimento das pesquisas com ¹⁸⁶Re na área de Radiofarmácia.

Produção de Compostos Marcados para Uso em Radioterapia. Metodologia de Preparação do ¹⁸⁶Re-HEDP. A radioquímica associada ao tratamento de alvos para a obtenção de ¹⁸⁶Re, com características apropriadas para sua incorporação a compostos orgânicos ou inorgânicos é relativamente simples, porque não requer a disponibilidade de equipamentos e celas de produção sofisticadas.

A preparação de radiofármacos de ¹⁸⁶Re é facilitada, pelo fato de sua química ser, em muitos aspectos, semelhante à do Tc, além de algumas diferenças importantes, particularmente: maior facilidade em ser oxidado a perrenato que o Tc a pertecnetato, fato este que afeta de forma diferente sua eficiência de marcação e a estabilidade "in vivo".

Para a obtenção do ¹⁸⁶Re-HEDP injetável, dissolve-se, a princípio, o rênio metálico ativado em H₂O₂, formando-se assim o ácido perrênico e após, adiciona-se a esta solução NaOH ou NH₄OH dando formação ao sal correspondente.

A esta solução de ¹⁸⁶Re, contendo ¹⁸⁵Re como carregador, adiciona-se SnCl₂.2H₂O e o complexante hidroxietileno-difosfonato (HEDP). Em algumas referências bibliográficas cita-se também a adição de ácido gentísico. A solução é tamponada com acetato de sódio e os rendimentos de marcação esperados são >90%. O produto final, cujo pH deve estar na faixa 5,0-6,0, é então submetido ao controle de qualidade.

Objetivo do Trabalho. No presente trabalho propõe-se estudar a obtenção de ¹⁸⁶Re em Reator Nuclear e a preparação de um novo radiofármaco, o ¹⁸⁶Re-HEDP (hidroxietileno-difosfonato).

Pretende-se estabelecer as melhores condições de marcação, objetivando-se a obtenção de um produto quimicamente estável, com bons rendimentos e com características adequadas para uso em medicina nuclear.

Uma vez desenvolvida, esta metodologia, encontrar-se-á pronta para aplicação, porém as condições de operação do Reator deverão estar otimizadas (fluxo maior e operação contínua).

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Preparação de alvos de Re para irradiação no Reator IEA-R1. Amostras de 50 mg de rênio metálico natural foram acondicionadas em ampolas de quartzo, as quais foram inseridas em recipientes de alumínio e irradiadas no Reator IEA-R1, instalado no IPEN-CNEN/SP. O fluxo de neutrons empregado foi $1,0 \times 10^{13}$ n.cm⁻².s⁻¹ e o período de irradiação 8h. O resultado médio das atividades obtidas ao final de 7 irradiações foi $(45,2 \pm 7,2)$ mCi e a atividade específica $\cong 0,9$ mCi/mg Re.

Preparação de Perrenato de Sódio. Após a ativação e o decaimento apropriado da amostra, efetuou-se a abertura da cápsula de quartzo. Seu conteúdo foi transferido para um béquer de 10 ml e as paredes da cápsula foram lavadas com H₂O₂ 10 volumes.

Em seguida, o béquer foi coberto com um vidro de relógio e submetido a aquecimento brando (35-45°C) por 2 horas, para que a reação se completasse; sendo esta evidenciada pela total dissolução. Adicionou-se NaOH 25% à solução límpida e diluiu-se a 200 ml usando-se soro fisiológico.

Preparação do ¹⁸⁶Re-HEDP empregando-se Cloreto Estanoso como Agente Redutor. Variaram-se as concentrações dos reagentes para a avaliação dos rendimentos de marcação e acerto do pH ideal para a administração intravenosa. A preparação do complexo ¹⁸⁶Re-HEDP e o ajuste do pH das soluções seguiram basicamente o procedimento descrito abaixo:

Os testes preliminares foram efetuados pelo estudo da dissolução de 25 mg de SnCl₂.2H₂O em HCl, variando-se a concentração do ácido, de maneira a se conseguir uma dissolução total, utilizando-se o menor volume possível (Tabela 1).

Antes da preparação do ¹⁸⁶Re-HEDP fêz-se necessária a nitrogenação das soluções de acetato de sódio, de NaOH e de perrenato de sódio.

A preparação foi, inicialmente, realizada pelas dissoluções de 350 mg de HEDP em Acetato de sódio e de 135,4 mg de SnCl₂.2H₂O em 0,1 ml de HCl 12 M. Em seguida, adicionou-se a solução de SnCl₂/HCl à solução de HEDP.

Iniciou-se então a marcação adicionando-se 10 ml de perrenato de sódio à solução anterior, sob nitrogenação constante e aquecimento em 90-95°C, durante 10 minutos.

O acerto de pH da solução final, para a administração intravenosa, foi realizado pela adição de solução de NaOH. A nitrogenação foi interrompida após 5 minutos.

Preparação do ¹⁸⁶Re-HEDP empregando-se cloreto estanoso e ácido gentísico na redução. Os testes preliminares foram efetuados pelo estudo da dissolução do HEDP e ácido gentísico, em solução de perrenato de sódio.

Para a preparação do ¹⁸⁶Re-HEDP pesaram-se, inicialmente, 50 mg de HEDP, 19,3 mg de SnCl₂.2H₂O e

15 mg de ácido gentísico em um mesmo frasco. Nitrogenaram-se as soluções de acetato e de perrenato de sódio.

Iniciou-se a marcação pela adição de 5 ml de perrenato de sódio à solução anterior, sob nitrogenação constante e aquecimento em 90-95°C, durante 10 minutos.

O acerto de pH do produto marcado, para a administração intravenosa, foi realizado pela adição de solução de acetato de sódio. A nitrogenação foi encerrada após 5 minutos.

Pureza Radioquímica do Produto e Cálculos dos Rendimentos de Marcação. A pureza radioquímica do complexo $^{186}\text{Re-HEDP}$ foi analisada por cromatografia empregando-se papel Whatmann nº1 e 3MM. O perrenato livre e o rênio hidrolisado reduzido ($^{186}\text{ReO}_2$) foram determinados em dois sistemas separados, usando-se acetona e HEDP 0,01 M em solução salina 0,9% como solvente, respectivamente. Por meio desta análise, determinaram-se também os rendimentos de marcação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Preparação do $^{186}\text{Re-HEDP}$ quando se usou apenas SnCl_2 na Redução. Os testes preliminares mostraram que a concentração de HCl mais indicada para a solubilidade do $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, é 12 N, pois esta dispensa a necessidade de nitrogenação para a realização da marcação e proporciona o menor volume possível de solução.

TABELA 1. Teste de Solubilidade de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em (25 mg) 1.0 ml de HCl

Concentração de HCl(N)	Solubilidade
0.005	Turvo
0.03	Turvo
0.04	Turvo
0.045	Turvo
0.05	Turvo
0.09	Turvo
0.1	Turvo
3.6	Turvo
4.0	Turvo
4.8	Turvo
5.0	Turvo
6.0	Límpido
8.0	Límpido
12.0 ^a	Límpido

a. Volume de HCl = 0.1 ml

TABELA 2. Importância da Ordem de Adição dos Reagentes

Ordem	Situação 01	Situação 02
1°	$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$	HEDP/AcNa
2°	NaOH	$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$
3°	H_2O	NaReO_4
4°	HEDP/AcNa	NaOH
5°	NH_4ReO_4	---
Rendimento de marcação	(29 ± 5)%	(92 ± 3)%

Durante a pesquisa, foi observado que a ordem de adição dos reagentes, influenciava no rendimento da marcação. Pode-se observar pela tabela II, que é importante obedecer a situação 02, cuja ordem de adição dos reagentes levou ao maior rendimento de marcação.

Segundo a Tabela 3, observam-se que concentrações maiores de NaOH causam diminuição dos rendimentos de marcação. Provavelmente, este fato seja devido à alteração do pH final, pois analisando-se os resultados, nota-se que quanto maior for o pH, menor é o rendimento de marcação.

As situações 07 e 08 apresentam maiores rendimentos (provavelmente pela ausência da base) e isto é evidente quando comparadas com as situações 06 e 07, onde os pH finais são equivalentes.

Preparação de $^{186}\text{Re-HEDP}$ usando-se SnCl_2 e ácido gentísico como Redutores. Os resultados dos testes preliminares tiveram sucesso, pois mostraram grande solubilidade já nas primeiras tentativas.

O pH do produto marcado, para a administração intravenosa, ficou estabelecido entre 5 e 6, com rendimentos de marcação de (96 ± 3)%.

Preparação do Complexo quando se usou SnCl_2 e ácido gentísico na redução. Esta metodologia apresentou-se, até o momento, com bons rendimentos de marcação e pHs adequados para a administração intravenosa.

TABELA 3. Variações nas Concentrações e Volume de acetato de sódio e hidróxido de sódio empregados na preparação. Parâmetros relativos ao HEDP, SnCl₂.2H₂O e HCl constantes.

Situação	AcNa		NaOH		H ₂ O	pH	Rendimento
	V(ml)	C(M)	V(ml)	C(M)			
01	4	1	5,9	6	---	14	(60 ± 18)%
02	4	1	0,56	10	7,14	10	(88 ± 4)%
03	4	1	5,9	0,95	---	10	(89 ± 5)%
04	4	1	5,9	0,85	---	7,5	(95 ± 2)%
05	4	1	5,9	0,75	---	6,7	(93 ± 2)%
06	4	1	5,9	0,65	---	5	(92 ± 3)%
07	9,9	1	---	---	---	5	(98 ± 2)%
08	9,9	0,85	---	---	---	4,7	(103 ± 3)%

Tabela baseada em 12 experimentos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à AIEA pelo auxílio financeiro da pesquisa e ao CNPq pelo apoio através de bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] DENG HOU-FU, TAN TIAN-ZHI, A New Radiopharmaceutical for Bone Tumor Therapy - The Experimental Study of ¹⁸⁶Re-HEDP, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, vol.35, 76-78, 1994.
- [2] KLERK, J.M.H.; ZONNENBERG, B.A. et al, Dose Escalation study of rhenium-186 hydroxyethylidene diphosphonate in patients with metastatic prostate cancer, *European Journal of Nuclear Medicine*, vol. 21(10), 1114-1120, 1994
- [3] VOLKET, W. A. et al, **Therapeutic Radionuclides: Production and Decay Property Considerations**, *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 32, nº 1, 1991
- [4] VERA RUIZ, H., **Radionucleidos para la terapia paliativa del dolor en casos de metastasis osseas**, OIEA (Palestra ministrada no XIII Congresso ALASBIMN, Cartagena de Indias, Colombia, 18-22/ out/ 93
- [5] WANG FAN, JIN XIAOHAI et al, **Synthesis of ¹⁸⁶Re(Sn)-HEDP and the control analysis of chromatographic methods**. (Trabalho apresentado no 6º Congresso Mundial da WFNMB, out/ 94)
- [6] WEININGER, J.; A. R. KETRING and E. A. DEUTSCH. **¹⁸⁶Re-HEDP: A Potential Therapeutic Bone Agent**. *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 23, 81-2, 1984

ABSTRACT

The beta emitting radionuclides are of great interest in Oncology. They present great potential as radiotherapeutics and also in palliative treatment of metastatic bone pain. Since their particles are of small range, they are more adequate to small and medium tumor treatment.

Rhenium-186, one of these radionuclides, which nuclear properties are $E_{\gamma}=0,137$ MeV e $E_{\beta}=1,07$ and $0,93$ MeV e $T_{1/2}=3,7$ days, is obtained by the ¹⁸⁵Re (n,γ) ¹⁸⁶Re reaction in nuclear reactor.

The purpose of this research is to study a method to obtain the radiotherapeutic ¹⁸⁶Re-HEDP (hydroxyethylidene diphosphonate) and its quality control.

After irradiation, the metallic rhenium is transformed in perrhenic acid, which with addition of NaOH or NH₄OH becomes the equivalent perrhenate.

The final product, ¹⁸⁶Re-HEDP, is obtained in presence of the reducing agent (SnCl₂), complexing agent (HEDP) and specific conditions. The ¹⁸⁶Re-HEDP is then evaluated for its radiochemistry and radioactivity purities, toxicity and biological control in rats.

At this stage of the work, variables that influence the % yield, such as reactant concentrations and pH of the solutions, have been studied when SnCl₂ as reducing agent is used.

Later, gentisic acid has been added, for comparison, to the reducing medium, which has shown the best % yield: (96 ± 3)%.