放射性医薬品の品質および試験法に関する研究（第3報）

塩化セシウム- ^{131}Cs 無菌溶液, 塩化ルビジウム- ^{86}Rb 無菌溶液,
ヨウ化アンチピリン- ^{131}I 無菌溶液, クロルメロドリン- ^{197}Hg 注
射液, メリソプロール- ^{203}Hg 注射液, ヨウ化大凝集人血清アル
ブミン- ^{131}I 注射液, および 過テクネチウム酸 ナトリウム- $^{99\text{m}}\text{Tc}$
注射液の純度試験について

浦久保五郎, 田中 彰, 長谷川 明, 池淵秀治

国立衛生試験所放射線化学部

東京都世田谷区上用賀1の18の1

1971年1月19日 受理

7種類の放射性医薬品の純度試験にロ紙クロマトグラフィや薄層クロマトグラフィおよび電気泳動法を使って, 最も適した展開溶媒と電気泳動条件の検討を行なった。その結果, 塩化セシウム- ^{131}Cs 無菌溶液と塩化ルビジウム- ^{86}Rb 無菌溶液には, アセトン/塩酸/水=4:1:3, メリソプロール- ^{203}Hg 注射液と過テクネチウム酸ナトリウム- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 注射液には70%メタノール, クロルメロドリン- ^{197}Hg 注射液はジメチルホルムアミド/水/メタノール=5:1:14の溶媒系を用いるロ紙クロマトグラフィで良い結果をえた。ヨウ化アンチピリン- ^{131}I 無菌溶液は薄層クロマトのみが好結果を与え, エタノール/ベンゼン=2:1の溶媒が最も良い結果を示した。ヨウ化大凝集人血清アルブミン- ^{131}I 注射液はペロナル緩衝液による電気泳動法が適していることがわかった。

1. 緒 論

前報¹⁾に引きつづき, 放射性医薬品の純度試験を主としてロ紙クロマトグラフィおよび電気泳動法を使用して検討した。今回は塩化セシウム- ^{131}Cs 無菌溶液, 塩化ルビジウム- ^{86}Rb 無菌溶液, ヨウ化アンチピリン- ^{131}I 無菌溶液, クロルメロドリン- ^{197}Hg 注射液, メリソプロール- ^{203}Hg 注射液(マーキュリーヒドロキシプロパン, MHP と略), ヨウ化大凝集人血清アルブミン- ^{131}I 注射液(MAA と略)および過テクネチウム酸ナトリウム- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 注射液の7品目について行なった結果, 若干の知見を得た。このうちヨウ化アンチピリンのみは薄層クロマトグラフィが適当でロ紙クロマトグラフィは適しないことが判明した。

一般に薬事法に基づく放射性医薬品基準²⁾などにも, ロ紙クロマトグラフ法が採用されているが, 経済性と迅速性という点から有利な純度試験法と考えられる。

2. 実験方法および結果

2・1 放射能測定機器および電気泳動装置

ロ紙電気泳動は, 小林式ロ紙電気泳動装置を使用したが, 放射能測定機器は前報¹⁾と同様のものを用いた。

2・2 試料および試薬

試料はダイナボット RI 研究所製の市販品を用いたが, 粗大ヨウ化人血清アルブミン注射液*については第一ラジオアイソトープ研究所製の市販品もあわせて使用した。

担体として用いた4-ヨウ化アンチピリン, mp 161.4~162.4°C³⁾ およびクロルメロドリン, mp 151~152.5°C⁴⁾ はそれぞれ文献既知の方法で合成した。MHP に対しては1-bromomercuri-2-hydroxypropane(BMHP と略), mp 75~75.5°C⁵⁾ をダイナボット RI 研究所より恵与されたので, これを担体とし, 塩化セシウムと塩化ルビジウムは各市販品をそのまま担体として使用した。

薄層クロマトグラフィ(TLC)には東京化成製のスポットフィルムシリカゲルGを用いた。

2・3 実験方法

ロ紙クロマトグラフィと電気泳動の一般操作は前報と同様に行なった。

2・3・1 塩化セシウム- ^{131}Cs 無菌溶液, 塩化ルビジウム- ^{86}Rb 無菌溶液

* 大凝集人血清アルブミンと同義

塩化セシウムと塩化ルビジウムは各1%水溶液を調製し, これを担体としてろ紙にスポットし, 各試料も同じ場所にスポット後, 常法により上昇クロマトグラフィを行なう。展開後風乾して臭化白金・臭化金試薬⁶⁾を噴霧して褐色に呈色させ, 放射性スポットと呈色スポットの一致を見た。Table 1 と Table 2 にそ

の結果を示したが, R_f 値, 展開時間, スポットのまとまりなどからアセトン/塩酸/水=4:1:3の混合溶媒が最もよいように思われる。

展開時間は7時間で十分であるが, そのラジオクロマトグラムはそれぞれまったく tailing を示さなかった。

Table 1 R_f Values of cesium chloride in various solvent mixtures

No.	Solvent	R_f	Developing time (hrs)
1	Acetone : c. HCl : Aq. dist=4:1:3	0.55	6
2	Acetone : c. HCl : Aq. dist=40:4:3	0.08	6
3	<i>n</i> -Butanol : c. HCl=8:2	0.02	6
4	<i>n</i> -Butanol : NH_4OH =4:1	0.04	6
5	<i>n</i> -Butanol : Pyridine : NH_4OH =10:5:10	0.14	6
6	Pyridine : Aq. dist=9:1	0.16	6
7	Methylethylketone : c. HCl=45:4	0.03	6

Table 2 R_f Values of rubidium chloride in various solvent mixtures

No.	Solvent	R_f	Developing time (hrs)
1	Acetone : c. HCl : Aq. dist=3:1:4	0.55	6
2	Acetone : c. HCl : Aq. dist=4:1:3	0.52	6
3	Acetone : c. HCl : Aq. dist=40:4:3	0.06	5
4	Methylethylketone : c. HCl=45:5	0.03	5.2
5	<i>n</i> -Butanol : Acetic acid : Aq. dist=8:1:3	0.09	6
6	<i>n</i> -Butanol : Acetic acid : Aq. dist=20:4:3	0.07	7
7	Ethanol : Aq. dist=2:3	0.73	6
8	Pyridine : Aq. dist=9:1	0.02	5

2.3.2 ヨウ化アンチピリン-¹³¹I 無菌溶液

スポットフィルム的一端から20mmの個所に15,000~20,000 cpm を示す放射性ヨウ化アンチピリンの試料をつけ, さらに担体の0.1% エタノール溶液を1滴スポットし, 風乾後室温で展開。スキャナーで放射性スポットを確認し, 呈色剤として Dragendorff 試薬を噴霧すると呈色スポットと放射性スポットがまったく一致することから確認および純度試験を行なった。ラジオクロマト上で $R_f=0.79$ にヨウ化アンチピリンのスポットが, $R_f=0.5$ には遊離のヨウ素と思われるピークがわずかに認められた。これはヨウ化ナトリウムの展開クロマトグラフィによる R_f 値と一致することからイオン化した I^- のピークと考えられる。

溶媒としては Table 3 の No. 1 の溶媒が適当と考えられるが, その理由はこれ以外の溶媒でも展開時間は同様に短く, ヨウ化アンチピリンの R_f 値も適当で

あるが, ヨウ素イオンとの分離に多少の難点が認められるので, No. 1 の溶媒が最適とされるわけである。炭化水素系の溶媒のみでは R_f 値はほとんど0に近く, ベンゼンとブタノール系の混合溶媒では R_f 値が高すぎるのが欠点である。

またろ紙クロマトグラフィは本医薬品には不適であった。

2.3.3 クロルメロドリン-¹⁹⁷Hg 注射液 (CM-¹⁹⁷Hg と略)

本品の定性反応はクロルメロドリン-²⁰³Hg 注射液と同様に行なったが, 溶媒は別紙に報告⁷⁾したように DMF/H₂O/MeOH (5:1:14) を使用した。この溶媒系の使用はテーリングもなく, 展開時間は室温で3時間。約20cmの上昇距離を示し, 定性および定量試験をいままでより迅速化した。この溶媒は無機性の水銀は原点にとどまり, 他の成分との分離能も良好であっ

Table 3 R_f Values of iodoantipyrin in various solvent mixtures

No.	Solvent	R_f	Developing time (hrs)
1	Ethanol : Benzene=2:1	0.79	1.50
2	Ethanol : Benzene=3:2	0.88	1.50
3	Ethanol : Benzene=3:1	0.54	1.50
4	Ethylacetate : Benzene=3:1	0.44	1.33
5	Acetone : Benzene=3:2	0.69	1.33
6	Petroleum ether (bp 40-60°) : Benzene=3:1	0.01	2.00
7	Acetone : Benzene : Acetic acid=13:13:2	0.73	1.33
8	Ethylacetate : Benzene : Methylalcohol=1:1:1	0.66	1.50
9	Ethylacetate : Benzene : Methylalcohol=1:12:1	0.75	1.33

た。

2・3・4 MHP-²⁰³Hg 注射液

MHP の水銀の定性は前述の方法 2・3・3 と同一であるが、溶媒は水性メタノール、水性エタノール系のものでは比較的早く、無機性の水銀はこの種の溶媒では原点に近い R_f 値を示す。そのロ紙クロマトグラフィで、約 20 cm の距離を展開するのに室温では約 3～4

時間を要するのみで、いずれも迅速性という面からは良い溶媒といえる。

MHP-²⁰³Hg はこのものの自体が不安定であるので BMHP を担体として定性試験をおこなったが、著者らの使用したかぎりの溶媒では、MHP と BMHP の R_f 値に差異は認められなかった。Table 4 にロ紙クロマトグラフィを行なった結果をまとめて示した。

Table 4 R_f Values of 1-mercuri-2-hydroxypropane (MHP) in various solvents

No.	Solvent	R_f	Developing time (hrs)
1	50% Methanol	0.72	3
2	50% Ethanol	0.81	3
3	Toluene : Ethanol (1:1)	0.74	2
4	DMF : Aq. dist : Methanol (5:1:14)	0.81	3
5	Benzene : Acetone (1:1)	0.73	2
6	Benzene : Ethanol (4:6)	0.82	4
7	70% Methanol	0.86	3

2・3・5 MAA-¹³¹I 注射液

MAA-¹³¹I は第 2 報¹⁾ のヨウ化人血清アルブミン (HSA-¹²⁵I) 注射液で述べた電気泳動法をそのまま使用したが、対照の HSA が 7～8 cm の泳動距離を示す泳動条件でも MAA-¹³¹I はほとんど原点に位置しており、ロ紙クロマトグラフィでは HSA も MAA もともに原点にとどまるが、遊離のヨウ素はかなりの R_f 値を示すので、夾雑するヨウ素イオンの試験法にロ紙クロマトグラフィを使用することは必要である。電気泳動とロ紙クロマトグラフィのラジオクロマトグラムはいずれも原点に単一ピークを示した。

電気泳動の条件は電流密度が 2.5 mA/cm² とした以外は前報とまったく同様である。電解液はペロナル緩衝液。ロ紙クロマトグラフィでは 2・3・4 にのべた

Table 4 の No. 4 の溶媒を用いた。なお粒度分布試験については別に報告の予定である⁸⁾。

2・3・6 過テクネチウム酸ナトリウム-^{99m}Tc 注射液

本品のロ紙クロマトグラフィの結果は Table 5 に示す。水性メタノールが展開時間が短く、 R_f 値も適当であり、70～80% の水性メタノールが展開溶媒として選ばれると $R_f=0.6\sim0.7$ を示し、 R_f 値に少し幅があるが、それぞれのラジオクロマトグラムでは、放射性スポットはいずれもかなりよいまとまりを示しているが、溶媒組成の簡単な点などからも 70% メタノールが最適と考えられる。

^{99m}Tc は ⁹⁹Mo を親核種としてミルキングにより生成し、用時滅菌食塩水で TcO₄⁻ の型で得られるが、^{99m}Tc の溶離図をヒストグラムで描くと、溶離開始か

Table 5 R_f Values of sodium pertechnetate- ^{99m}Tc in various solvents

No.	Solvent	R_f	Developing time (hrs)
1	70% Methanol	0.64	2.5
2	Methanol : Acetone=5:3	0.67	1.0
3	Methanol : Acetic acid : c. NH_4OH : Aq. dist=3:2:3:2	0.71	5.0
4	Methanol : Acetic acid : Aq. dist=8:1:1	0.57	2.0
5	80% Ethanol	0.71	5.0
6	Ethanol : Benzene : Aq. dist=4:35:61	0.85	6.0
7	Acetone : Aq. dist=8:2	0.94	2.5

ら 8 ml ないし 13 ml に ^{99m}Tc の 85% が溶離されてくることがわかった。その溶離曲線もきわめてシャープな形を示した。

なお Mo の漏出はエチルキサントゲン酸カリウムによる試験では陰性であった。

3. 考 察

塩化セシウムと塩化ルビジウムは Table 1 と Table 2 に示すように塩酸酸性のアセトン溶媒で比較的高い R_f 値を, プタノールと酢酸系では低い R_f 値を示した。Table 2 の No. 7 の溶媒も展開距離が多少前述の溶媒に比して低いようであるが組成も簡単で使いやすいと考える。

ヨウ化アンチピリンはアンチピリンの 4 の位置にヨウ素化したものであるが, ロ紙によるクロマトグラフィは夾雑物質が適当な R_f 値を示すためにはアンチピリンの R_f 値が高過ぎ, R_f 値が適当なときは夾雑物質が原点に残り好結果を与えなかった。ベンゼン, ヘキサン, シクロヘキサン, トルエン, キシレンなどの炭化水素系溶媒はそれを単独に用いたときは R_f 値が 0 に近く, プタノールのような極性溶媒を添加すると R_f 値は極端に高くなりロ紙によるクロマトグラフィはまったく不適であると判断した。

クロルメロドリンは ^{203}Hg -標識のものがすでに放射性医薬品基準に収載されているので, その溶媒をそのまま用いたが, この優秀性についてはすでに報告した⁹⁾。

MHP は 70% メタノールが一般によく使われるが, そのつど R_f 値に多少の変動があり $R_f=0.85\sim 0.88$ であった。50% メタノールでは多少テーリング気味であるが, Table 5 の No. 4 の溶媒は再現性もよくスポットのまとまりが良いが, 経済性から見て 70% メタノールが使いやすい。

MAA は HSA の凝集したもので, 一種のタンパ

ク変性したものと考えられるので, 電気泳動でもほとんど原点にとどまり, HSA の泳動条件では動かない。もちろんロ紙でも HSA と MAA はまったく同じ挙動を示し, 原点に残り, 単一の放射性ピークを示すのみであった。MAA の粒子の大きさは 0.1% BPB アルコール液で染色して, スケールつきの接眼レンズでその直径を検鏡することにより巨大粒子の混入を検査して, たとえば 150μ 以上の直径をもつ粒子は含まず, 90μ 以上の粒子は 5% 以下というような規定を設けるのがよい。 ^{99m}Tc の生物学的性質はハロゲン元素のそれとよく似ているので第 1 報で行なった $\text{NaI-}^{131}\text{I}$ に対する溶媒系を考慮して溶媒を選択してロ紙クロマトグラフィを行なった。Table 5 に示したようにメタノールが展開時間も短く, 比較的使いやすい溶媒である。適当な Tc の化合物が入手できないため, 担体を用いて検討することはできなかったが担体を用いなくてもとくに支障はなかった。

4. 結 語

7 種類の放射性医薬品についてロ紙クロマトグラフィと薄層クロマトグラフィおよび電気泳動による純度試験に適した展開条件と泳動条件を検討した。

塩化セシウム- ^{131}Cs 無菌溶液と塩化ルビジウム- ^{86}Rb 無菌溶液にはアセトン/塩酸/水=4:1:3, MHP- ^{203}Hg 注射液と過テクネチウム酸ナトリウム- ^{99m}Tc 注射液には 70% メタノールが, クロルメロドリン- ^{197}Hg 注射液には ^{203}Hg 標識体と同じジメチルホルムアミド/水/メタノール=5:1:14 の溶媒系を用いるロ紙クロマトグラフィで良い結果を得た。ヨウ化アンチピリン- ^{131}I 無菌溶液は薄層クロマトグラフィのみが好結果を与えエタノール/ベンゼン=2:1 の溶媒が満足な結果を示した。さらに MAA- ^{131}I 注射液はペロナール緩衝液による電気泳動により HSA との区別は可能であった。

文 献

- 1) 長谷川明, 田中彰, 城戸靖雅, 浦久保五郎:
Radioisotopes, **16**, 598 (1967)
- 2) 放射性医薬品基準, 昭和44年12月20日厚生省告示第402号
- 3) W.O. Emery, S. Palkin: *J. Am. Chem. Soc.*, **38**, 2116 (1916)
- 4) R.L. Rowland, W.L. Perry, E.L. Foreman, H.L. Friedman: *ibid.*, **72**, 3595 (1950)
- 5) J. Sand, K.A. Hoffmann: *Chem. Ber.*, **33**, 1353 (1900)
- 6) F. Feigl: "Spot test in inorganic analysis" p. 234, Elsevier Publishing Co. (1958)
- 7) A. Tanaka, A. Hasegawa, G. Urakubo: *Nuclear Medizin*, **9**, 259 (1970)
- 8) 浦久保五郎, 長谷川明, 東条憲一: 医薬品研究, **2**, 投稿中
- 9) A. Tanaka, G. Urakubo: *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 2084 (1968)
- 10) 浦久保五郎, 城戸靖雅, 長谷川明: *Radioisotopes*, **14**, 504 (1965)

Abstract

Studies on the Quality and Test Method of Radiopharmaceuticals (3)

Purity Test of Cesium Chloride- ^{131}Cs Sterile Solution, Rubidium Chloride- ^{86}Rb Sterile Solution, Iodoantipyrin- ^{131}I Sterile Solution, Chlormerodrin- ^{197}Hg Injection, Merisoprol- ^{203}Hg Injection, Iodinated Macro Aggregated Human Serum Albumin- ^{131}I Injection, and Sodium Pertechnetate- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ Injection*

Goro URAKUBO, Akira TANAKA, Akira HASEGAWA and Hideharu Ikebuchi

Department of Radiochemistry, National Institute of Hygienic Sciences

Purity test of seven kinds of radiopharmaceuticals was examined by using paper and thin-layer chromatographic techniques and paper electrophoretic method. On paper chromatography, the most suitable solvents were shown as below;

for cesium chloride and rubidium chloride: acetone/HCl/aq. dist.=4:1:3

for chlormerodrin: dimethylformamide/aq. dist./methanol=5:1:14

for merisoprol and sodium pertechnetate: 70% methanol.

In the case of iodoantipyrin, paper chromatography was not suitable, but only thin-layer chromatography gave satisfactory result with a mixture of ethanol-benzene=2:1.

Electrophoresis with veronal buffer solution have proved most useful in the separation of macro aggregated human serum albumin and human serum albumin. The latter traveled further than the former which remained on the spotted origin under the same condition.

(Received January 19, 1971)