技術報告

 ^{99m}Tc 標識医薬品の迅速純度検定法[†]

安東 醇, 真田 茂, 安東逸子, 平木辰之助, 久田欣一*

金沢大学医療技術短期大学部 920 金沢市小立野 5-11-80

*金沢大学医学部 920 金沢市宝町 13-1

1983年11月15日 受理

Key Words: rapid miniaturized paperchromatography, quality control, technetium- 99m methylene diphosphonate, technetium- 99m pertechnetate

1. 緒 言

核医学診断には ^{99m}Tc 標識医薬品が多量に使用されている。しかし ^{99m}Tc 標識医薬品は放射化学的に十分な安定性がないので、製剤中に不純物としての ^{99m}Tc を含むことがある。これらの不純物の検定法は、放射性医薬品基準に定められているが、その検定には数十分から数時間を要するので、 ^{99m}Tc 製剤を患者に投与する前に短時間に検定することはできない。そこで迅速に検定する方法が望まれており、miniaturized chromatography system (以下、ミニクロマトグラフ) が報告されている¹⁻⁶。実用的には、ミニペーパークロマトグラフとミニ薄層クロマトグラフを相当と考え、われわれはすでにアセトン、生理食塩水および85%含水メタノールをおのおの展開溶媒としたミニペーパークロマトグラフを報告した⁷⁾。今回はこれを ^{99m}Tc -リン酸系化合物の検定用に改良したので報告する。

2. 実験材料および方法

2.1 実験材料

展開用ろ紙: TOYO FILTER PAPER No. 50を0.5 cm×5.5 cmの長方形に切り、下端より1 cmの位置を原点とした (Fig. 1)。

展開槽: 展開槽は1.5 cmφ×8 cmのガラス製試験管を使用し、展開溶媒は0.5 ml 入れ、上端にゴム栓をし

て使用した (Fig. 1)。

$^{99m}\text{TcO}_4^-$ 溶液: 第一RI研究所製 $^{99}\text{Mo}-^{99m}\text{Tc}$ ジェネレータより溶出したものを生理食塩水で適当に希釈して使用した。

メチレンジホスホン酸テクネチウム (^{99m}Tc) 注射液 (以下、 ^{99m}Tc -MDP): 第一RI研究所製テクネ MDP キットに仕様書通り $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 溶液を加えて標識したものを使用した。

エタンヒドロキシ二ホスホン酸テクネチウム (^{99m}Tc) 注射液 (以下、 ^{99m}Tc -EHDP): ダイナボット RI 研究所製ジホスキットに仕様書通り $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 液を加えて標識したものを使用した。

ピロリン酸テクネチウム (^{99m}Tc) 注射液 (以下、 ^{99m}Tc -

Fig. 1 Schema of miniaturized paper chromatography.

[†] Rapid Quality-Control Procedures for ^{99m}Tc Radiopharmaceuticals. Atsushi ANDO, Shigeru SANADA, Itsuko ANDO, Tatsunosuke HIRAKI and Kinichi HISADA*: The School of Allied Medical Professions, Kanazawa University, 11-80, Kodatsuno 5-chome, Kanazawa-shi 920, *School of Medicine, Kanazawa University, 13-1, Takaramachi, Kanazawa-shi 920.

PYP): 第一RI 研究所製テクネピロリン酸キットに仕様書通り $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 液を加えて標識したものを使用した。

Hydroxyapatite 結晶: 米国マリノクロット社製 Calcium phosphate tribasic ($\text{Ca}_{10}(\text{OH})_{10}(\text{PO}_4)_6$) を使用した。

その他の試薬は市販の特級試薬を使用した。

2・2 実験方法

まず上記のミニペーパークロマトグラフに適した展開溶媒の検索を行った。すなわち, 上記展開用ろ紙のほぼ上端まで展開したとき, $^{99m}\text{TcO}_4^-$ と上記 3 種の ^{99m}Tc -リン酸系化合物の分離の最もよい展開溶媒をオートラジオグラフにより検討した。展開溶媒としてアセトンおよび90%, 80%, 70%の含水アセトン(以下, 90%, 80%, 70%アセトンとする), 生理的食塩水, メタノールおよび85%, 50%の含水メタノール, メチルエチルケトンおよび95%, 90%の含水メチルエチルケトン, メタノール・10倍に希釈したアンモニア水混液(17:3)を使用した。このうち, アセトン, 生理的食塩水, メタノールはわれわれがすでに報告した⁷⁾ものであり, メタノール, メタノール・10倍希釈アンモニア水, メチルエチルケトンは ^{99m}Tc -リン酸系化合物の純度検定に放射性医薬品基準に示されているものである。

つぎに, 最適と考えられている展開溶媒によるミニペーパークロマトグラフ法, 放射性医薬品基準に定められている純度試験法(以下, 医薬品基準法と記す), hydroxyapatite 結晶への吸着率をみる方法(以下, HA法と記す)の3法による純度試験値の比較を行った。対象とした放射性医薬品は上記3種の ^{99m}Tc -リン酸系化合物である。HA法において, ^{99m}Tc -リン酸系化合物は hydroxyapatite 結晶へ定量的に吸着するが, $^{99m}\text{TcO}_4^-$ は吸着しない⁸⁾。市販のキットを使用して, 上記 ^{99m}Tc -リン酸系化合物を調製すれば, ほぼ100%の放射化学純度で標識されるとされている。しかし, 標識後, 希釈すると ^{99m}Tc がはずれで遊離の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の割合が増す。そこで生理的食塩水で100倍に希釈した上記医薬品および $^{99m}\text{TcO}_4^-$ についても同様に比較した。

ミニペーパーグラフ法では展開用ろ紙の下端より1 cm の位置に試料を吸着させ, 溶媒がほぼ先端まで上昇したときに展開を終り, 風乾後, 原点より1 cm 上方で原点側と溶媒先端側に切り, 全放射能に対する溶媒先端側の放射能($^{99m}\text{TcO}_4^-$)の割合を求めた。放射能測定はウエル型シンチレーションカウンタ(Aloka JD-

C-701)で行った。医薬品基準法はつぎのように行った。 ^{99m}Tc -MDP はメチルエチルケトンを展開溶媒とした薄層クロマトグラフ法により約40分間展開した。 ^{99m}Tc -EHDP は85%メタノールを展開溶媒として, 薄層クロマトグラフ法により約10 cm 展開した。 ^{99m}Tc -PYP はメタノール・10倍希釈アンモニア水混液(17:3)を展開溶媒としてペーパークロマトグラフ法により約2時間展開した。薄層クロマトグラフ法によるものについてはラジオ薄層スキャナ(Aloka JTC-203)で測定した。ペーパークロマトグラフ法によるものについては, 原点付近とそれ以外の部分に切り, それぞれ上記のウエル型シンチレーションカウンタで測定した。HA法では1.5 ml の蒸留水に10 mg の hydroxyapatite 結晶を混濁させ, 各 ^{99m}Tc -リン酸系化合物溶液および $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 溶液 0.05 ml を加えて5分間振盪後, 上清と沈殿(hydroxyapatite 結晶)に遠心分離し, それぞれを上記ウエル型シンチレーションカウンタで測定した。

3. 結 果

まず ^{99m}Tc -MDP の結果について述べるが, 生理的食塩水, メタノール・10倍希釈アンモニア水(17:3), 各濃度のメチルエチルケトン, 各濃度のメタノールを展開溶媒として ^{99m}Tc -MDP と $^{99m}\text{TcO}_4^-$ を別々にミニペーパークロマトグラフ法で展開し, そのオートラジオグラムをFig. 2に示した。同様に各種濃度のアセトンを溶媒としたときのオートラジオグラムをFig. 3に示した。図のように各種濃度のアセトンとメチルエチルケトンの中に ^{99m}Tc -MDP と $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の分離のよいものがあったが, とくにアセトン系のものが分離がよかった。アセトンおよび90%, 80%アセトンでは ^{99m}Tc -MDP は原点に留まったが, 70%アセトンでは ^{99m}Tc -MDP は一部が原点より上昇した。一方, アセトン系の溶媒で $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の R_f は0.8~0.9となり, ^{99m}Tc -MDP とよく分離した。 ^{99m}Tc -EHDP, ^{99m}Tc -PYP も ^{99m}Tc -MDP とほぼ同様の結果であったが, 詳細は省略する。

つぎに80%および90%のアセトンを展開溶媒としたミニペーパークロマトグラフ法, 医薬品基準法, HA法の3法による同一試料の純度試験の結果をTable 1に示す。数値はこれらに含まれる遊離の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の百分率で示した。 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 溶液はHA法によると97.8%, 他法によるとほぼ100%となった。 ^{99m}Tc -MDP, ^{99m}Tc -EHDP, ^{99m}Tc -PYP の原液はHA法によると約1%, 他法によると0%であった。希釈した ^{99m}Tc -MDP は医

Table 1 Comparison of results of radiochemical purity control with minipaper, standard method and hydroxyapatite method (Figures indicate the percentage of free $^{99m}\text{TcO}_4^-$)

Methods		$^{99m}\text{TcO}_4^-$	$^{99m}\text{Tc-MDP}$	$^{99m}\text{Tc-EHDP}$	$^{99m}\text{Tc-PYP}$	Diluted $^{99m}\text{Tc-MDP}$	Diluted $^{99m}\text{Tc-EHDP}$	Diluted $^{99m}\text{Tc-PYP}$
Minipaper	90	99.7	0.1	0.1	0.3	21.5	1.1	3.5
	80	99.9	0.1	0.1	0.4	24.5	1.4	8.6
Thin layer (M)		100	0	—	—	30.1	—	—
(E)		100	—	0	—	—	5.9	—
Paper		99.7	—	—	0.2	—	—	21.6
Hydroxyapatite		97.8	0.8	0.9	1.1	31.6	1.2	6.7

Minipaper 90: Miniaturized paper chromatography with 90% acetone

Minipaper 80: Miniaturized paper chromatography with 80% acetone

Thin layer (M): Thin layer chromatography for $^{99m}\text{Tc-MDP}$ according to standard method

Thin layer (E): Thin layer chromatography for $^{99m}\text{Tc-EHDP}$ according to standard method

Paper: Paper chromatography for $^{99m}\text{Tc-PYP}$ according to standard method

Standard method: Procedures for the purity test in "Minimum Requirements of Radiopharmaceuticals"

M.A.: Methanol and diluted ammonia solvent (1→10)=17:3

A: Methylethylketone, B: 95% Methylethylketone,

C: 90% Methylethylketone, D: Methanol, E: 85% Methanol,

F: 50% Methanol

Fig. 2 Autoradiogram of miniaturized paper chromatogram for $^{99m}\text{TcO}_4^-$ and $^{99m}\text{Tc-MDP}$ with saline and various solvents.

薬品基準法およびHA法によると約30%, ミニペーパークロマトグラフ法によると約21.5~24.5%と若干低い値を示した。希釈した $^{99m}\text{Tc-EHDP}$ はミニペーパークロマトグラフ法およびHA法によるものは約1%と一致した値が得られ、医薬品基準法によると5.9%となった。希釈した $^{99m}\text{Tc-PYP}$ はミニペーパークロマトグラフ法およびHA法によるものは3.5~8.6%で近い値が得られ、医薬品基準法によるものは21.6%となった。

4. 考 察

$^{99m}\text{TcO}_4^-$ 溶液の純度試験で遊離の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ がほぼ100%であるのは当然である。しかしHA法が97.8%を示したのはHA結晶の分離操作上の誤差であろう。また希釈していない、 $^{99m}\text{Tc-MDP}$, $^{99m}\text{Tc-EHDP}$ および $^{99m}\text{Tc-PYP}$ の純度試験の結果はTable 1のように、分離操作上の問題でHA法がやや大きいものの、いずれの方法も結果はよく一致し、ミニペーパークロマトグラフ法も十分信頼できることが明らかとなった。希

Fig. 3 Autoradiogram of miniaturized paper chromatogram for $^{99m}\text{TcO}_4^-$ and $^{99m}\text{Tc-MDP}$ with various solvents.

積した $^{99m}\text{Tc-MDP}$, $^{99m}\text{Tc-EHDP}$ および $^{99m}\text{Tc-PYP}$ の純度試験結果をみると、ミニペーパークロマトグラフ法は、 $^{99m}\text{Tc-MDP}$ については若干低い値を示したものの HA 法とよく一致した。医薬品基準法は遊離の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の割合を若干高く示す傾向にあった。

以上のように80~90%アセトンを展開溶媒としたミニペーパークロマトグラフ法は ^{99m}Tc -標識医薬品が原点に留まるので、その製剤中の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の迅速な検出法として純度試験値は十分信頼できるものであることが分かった。また、この方法は展開に約3分、測定までの時間を含めても10分以内にすべて完了し、病院で標識後、患者に投与する前の迅速検定に非常に有用である。

これらの展開溶媒中、80~90%のアセトンが適当であり、中でも90%アセトンを最良とわれわれは考えている。われわれは以前にアセトンを溶媒として使用し、今回と同じ好成績を得て報告した⁷⁾。しかし、その後繰り返し実験しているうちに、 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の R_f が0.8~0.9でなく、大きく tailing する場合のあることが分かった。この原因を追求したところ、アセトンから完全に水を追い出すと $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の tailing が始まることから、100%アセトンのつもりでも使用しているアセトン中に自然に溶けこんだ水分が大きく作用していることが分かった。そこで上記のように、少量の水

を含ませたアセトンを使用したところ、好成績を得たので、90%アセトンを展開溶媒とすることとした。

さて、今まで報告されている ^{99m}Tc 標識化合物純度検定用のミニペーパークロマトグラフ法またはミニ薄層クロマトグラフ法は Colombettiら¹⁾ が生理的食塩水またはアセトンを展開溶媒とした薄層クロマトグラフ法を報告しており、Belkasら⁴⁾ が85%メタノール、生理的食塩水、アセトンおよび15% H_3PO_4 を展開溶媒とした薄層クロマトおよびペーパークロマトグラフ法を報告している。Zimmerら^{2), 6)} もアセトンおよび生理的食塩水を展開溶媒とした薄層クロマトおよびペーパークロマトグラフ法を報告しており、Mock³⁾ は類似の報告をしている。これらのミニペーパークロマトグラフ法はわれわれがすでに述べた方法とよく類似しているが、アセトン溶媒については上記の理由で不適当である。少量の水を加えておくことが不可欠であり、90%アセトンがこれらの改良法である。

5. 結 語

90%アセトンを展開溶媒とするミニペーパークロマトグラフ法で ^{99m}Tc -リン酸系溶液中の $^{99m}\text{TcO}_4^-$ を10分以内に定量することが可能となった。

本研究に協力して下さった高橋 進、吉野能昌の両氏に感謝いたします。

文 献

- 1) Colombetti, L.G., et al.: *J. Nucl. Med.*, **17**, 805 (1976)
- 2) Zimmer, A.M. and Pavel, D.G.: *ibid.*, **18**, 1230 (1977)
- 3) Mock, B.H.: *ibid.*, **19**, 1086 (1978)
- 4) Belkas, E.P. and Archimandritis, S.: *Eur. J. Nucl. Med.*, **4**, 375 (1979)
- 5) Darte, L. and Persson, B.R.R.: *ibid.*, **5**, 521 (1980)
- 6) Zimmer, A.M., et al.: *ibid.*, **7**, 88 (1982)
- 7) 安東 醇, 他: 核医学, **12**, 68 (1975)
- 8) 安東 醇, 他: *Radioisotopes*, **23**, 224 (1974)