พปส.
OAEP -1-192

TH0300093

การควบคุมคุณภาพทางเคมีและชีววิทยา ของสารประกอบติดสลาก Methylene diphosphonate

Chemical and Biological control of MDP complex

โดย

อังคนันท์ อังกุรรัตน์
ทิพย์นันท์ งามประหยัด

กองผลิตไอโซโทป

กรกฎาคม 2536

สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ
กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

พปส./OAEP-1-192

การควบคุมคุณภาพทางเคมีและชีววิทยาและของสารประกอบติดสลาก Methylene diphosphonate Chemical and Biological control of MDP complex

อังคนันท์ อังกุรรัตน์
ทิพย์นันท์ งามประหยัด
กองผลิตไอโซโทป

ANGKANAN AUNGURARAT
TIPPANAN NGAMPRAYAD
ISOTOPE PRODUCTION DIVISION

กรกฎาคม 2536
JULY 1993

สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ
Office of Atomic Energy for Peace
กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม
Ministry of Science, Technology and Environment

This report was prepared as an account of work sponsored by the Office of Atomic Energy for Peace (OAEP) Neither the OAEP, nor any their employee, nor any of their contractors, subcontractors, or their employees, makes any warranty, expresses or implies, or assumes any legal liability or responsibility for the accuracy, completeness or usefulness of any information, apparatus, product or process disclosed, or represents that its use would not infringe privately owned rights

เอกสารฉบับนี้ จัดทำขึ้นโดยสำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ (พป.) สำนักงานไม่ประกันความรับผิดชอบทางกฎหมายในเรื่องความแน่นอน ความสมบูรณ์ หรือประโยชน์ของข้อมูล เครื่องมือผลิตผล หรือกระบวนการใด ๆ ที่เปิดเผยโดยเอกสารนี้

ISBN-974-7400-4-9-9

พิมพ์เมื่อ : มีนาคม 2543

Print : March 2000

บทคัดย่อ

สารประกอบติดสลาก MDP (Methylene diphosphonate) ที่ผลิตจากสารตั้งต้นของกองผลิตไอโซโทป (In house) และของบริษัท SIGMA นำมาตรวจสอบคุณภาพทางเคมีและชีววิทยาเพื่อหาความแตกต่างของสารประกอบติดสลากหลังจากติดสลากด้วยเทคนีเซียม-99เอ็ม ในด้านความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี, ปริมาณเนื้อสาร และผล Biodistribution

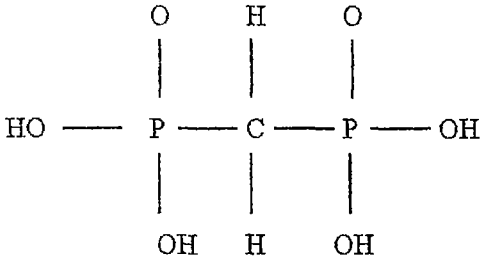
Technetium-99m MDP was prepared from MDP kits which different sources such as OAEP (In house), SIGMA. The resulting Tc^{99m}-MDP preparations were controlled in chemical and biological tests to compare the different results in these cases: radiochemical purity, the quantity of starting material and biodistribution result.

คำนำ

MDP (Methylene diphosphonate) เป็นสารเภสัชรังสีที่นำมาติดสลากกับเทคนีเชียม-99 เอ็ม (Tc^{99m}) เพื่อใช้ในการวินิจฉัยกระดูกและการสูบฉีดของกล้ามเนื้อหัวใจ (imaging of skeleton and acute myocardial infarction) สารประกอบสำเร็จรูป MDP สามารถเตรียมได้จากสารตั้งต้นที่มาจากแหล่งผลิตต่าง ๆ กัน ซึ่งในกรณีนี้จะผลิตจากสารตั้งต้นของกองผลิตไอโซโทป สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ (OAEP, In house) และจากบริษัท SIGMA สารตั้งต้น MDP ที่ผลิตโดยกองผลิตไอโซโทป และ SIGMA จะนำมาตรวจสอบหาเปอร์เซ็นต์ปริมาณเนื้อสารตั้งต้น ส่วนสารประกอบสำเร็จรูปของ MDP ที่ผลิตเพื่อนำมาติดสลากกับ Tc^{99m} นั้นจะนำมาตรวจสอบคุณภาพทั้งในด้านเคมีและชีววิทยา เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของสารดังกล่าว โดยจะพิจารณาในด้านความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีทั้งทางโครมาโตกราฟฟีและอิเลคโตรโฟเรซิส (Chromatographic and electrophoresis methods) และผลการกระจายตัวของสารติดสลากไปยังอวัยวะเป้าหมาย (% Uptake of Biodistribution)

นอกจากนั้นยังศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการติดสลากของสารทั้งสองดังกล่าว เช่น การหาปริมาณและปริมาตรความแรงรังสีของสารละลาย Tc^{99m} ในการติดสลาก, การหาเวลาที่เหมาะสมในการติดสลาก (Optimum time) เพื่อให้ได้เปอร์เซ็นต์ของการติดสลากมีค่าสูงที่สุด

<u>โครงสร้างของ MDP</u>



<u>การควบคุมคุณภาพทางเคมีและชีววิทยาของสารประกอบติดสลาก Methylene diphosphonate</u>

<u>วัตถุประสงค์</u>

1. ศึกษาหาความแตกต่างคุณภาพทางเคมีและชีววิทยาของสารประกอบติดสลาก MDP ที่ผลิตจากสารตั้งต้นของกองผลิตไอโซโทป (In house) และบริษัท SIGMA
2. ศึกษาหาความแตกต่างของปริมาณเนื้อสารตั้งต้นของ MDP (In house, SIGMA)
3. ศึกษาหาสภาวะความเหมาะสมในการติดสลากของ MDP ทั้งของ In house และ SIGMA

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

1. ITLC-SG strip ขนาด 1 5 cm x 18 cm
2. Whatman no.1 ขนาด 4 cm x 30 cm
3. 0.9 % NaCl
4. Acetone
5. Acetate buffer pH ~ 7.0
6. Distilled water
7. 0.1 N NaOH
8. KHP(potassium hydrogenphathalate)
9. MDP (In house, SIGMA)
10. MDP Kits (In hous, SIGMA)
11. Syringe ขนาด 1, 2 5, 5 0, 10 ml
12 Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml
13. Magnetic stirrer
14. Washing bottle
15 Power supply & Chamber for electrophoresis
16. Automatic titration device
17. Stirring rod

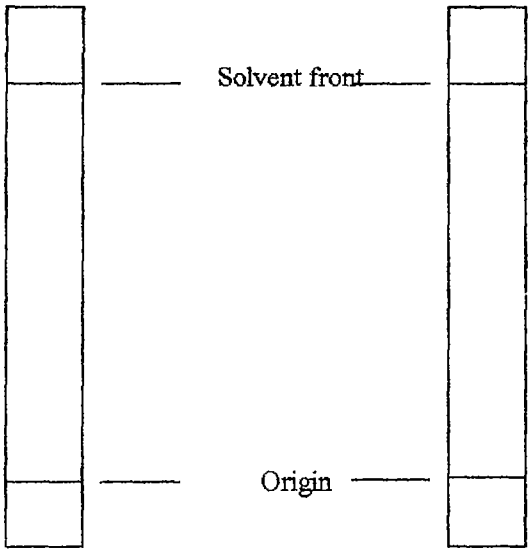
<u>วิธีทดลอง</u>

1 การควบคุมคุณภาพทางเคมี แบ่งออกได้เป็นดังนี้

1 1 การหาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีของสารประกอบติดฉลาก MDP โดยวิธีโครมาโตกราฟฟี

1.1 1 นำเทคนีเซียม-99เอ็ม ซึ่งมีความแรงรังสีประมาณ 30 มิลลิคูรี มาติดฉลากกับ MDP ทั้ง In house และ SIGMA โดยให้มีปริมาตรรวมประมาณ 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำสารละลายจากขวด MDP ทั้งสองมาวัดความแรงรังสี จดความแรงรังสีไว้

1 1.2 ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที หลังจากนั้น หยดสารละลายดังกล่าวลงบน ITLC-SG strip (ปริมาตร ~10 ไมโครลิตร) ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำ Strip ดังกล่าวหย่อนลงในหลอดทดลองที่มี Acetone และ 0.9% NaCl ตามลำดับ รอจนกระทั่งสารละลายวิ่งถึง Solvent front (ดังตารางที่ 1.)



Media:	ITLC-SG	ITLC-SG
Solvent:	Acetone	0 9% NaCl
Result:	Rf = 0 0(Cpx + H R)	Rf = 0.0 (H.R.)
	Rf = 1.0 (TcO_4^-)	Rf = 1.0 (Cpx + TcO_4^-)

Calculation: % labelling = 100-% TcO_4^- - % H.R.

Limit: % Radiochemical Purity = % Labelling > = 95 00 % (USPXXII)

1.2 การหาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีของสารประกอบติดสลาก MDP โดยวิธี อิเลคโตรโฟเรซิส

1.2.1 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1.1.1 ยกเว้นความแรงรังสีรวมต้องประมาณ 150 มิลลิคูรี และปริมาตรรวมประมาณ 3 มิลลิลิตร

1.2.2 ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที แล้วหยดสารละลายดังกล่าวลงบน Whatman no.1 strip (ปริมาตร ~ 10 ไมโครลิตร) ทิ้งไว้ให้แห้ง นำ Strip ไปวางใน Chamber ที่มี Acetate buffer pH ~ 7.0 โดยให้ปลายทั้งสองของ Strip จุ่มลงในสารละลาย ปิดฝา Chamber ให้เรียบร้อย

1.2.3 Supply Power ให้กับ chamber โดยใช้ High Voltage = 240 V. ทิ้งไว้ให้ทำงานประมาณ 1.5 ชั่วโมงแล้วเอา strip ขึ้น ตากให้แห้ง นำมา Scan Peak หา Purity of complex โดยเปรียบเทียบผลกัน

1.2.4 ทำการทดลองเหมือน 1.2.2 เพียงแต่เปลี่ยนสารติดสลาก MDP ด้วยเทคนีเซียม-99 เอ็ม เป็นเทคนีเซียม-99เอ็มเพียงชนิดเดียว แล้วทำการทดลองเหมือน 1.2.3 นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับ Peak ของ Complex ของ MDP (In house, SIGMA) แล้วนำผลมาพิจารณาหาความแตกต่างระหว่าง peak ทั้งสามในดังตารางที่ 2. และFigure 1

2. การควบคุมคุณภาพทางชีววิทยา

2 1 การหา Sterility Test

USPXXII ใช้ Media 2 ชนิด คือ

1. Fluid thioglycollate medium (FTM) เป็น Media ที่ใช้ทั่วไปสำหรับแบคทีเรียพวกแอโรบิค, แฟคัดทาทีฟ และแอนแอโรบิค

2 Soybean Casein Digest Medium (SCDM) ใช้ในการตรวจสอบหาแบคทีเรียพวกแอโรบิค และฟังไจที่ปนเปื้อนในปริมาณน้อย ๆ

สำหรับ FTM จะ incubate 7 – 14 วัน ที่ 37°C

และ SCDM " 7 - 14 วัน ที่ 25°C

<u>ผล</u> ถ้าไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อใน Media ทั้งสอง แสดงว่า <u>สารนั้นปลอดเชื้อ</u> (sterility - ve)

<u>หมายเหตุ</u> : ในการทดลองนี้ใช้
- ปริมาตรของสารละลาย MDP = 2 ml (MDP ละลายด้วย 2 ml ของ 0.9% NaCl)
- ปริมาตรสารละลาย MDP ที่น้อยที่สุดในการทดลอง = 1 ml (minimum test volume of MDP)
- ปริมาตรของ Media ที่น้อยที่สุดในการทดลอง = 15 ml (minimum volume of medium)
- ใช้ 0.9% NaCl เป็นตัวทำละลาย

2.2 การทำ Pyrogen Test

Pyrogen หมายถึงแบคทีเรียที่ตายแล้ว (dead bacteria), ยีสต์, ฟังไจ และผลิตผลที่ก่อให้เกิดไข้เมื่อได้รับการฉีดเข้าไป รวมถึงผนังเซลของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดไพโรเจน (Gram negative bacterial cell wall produced the most potent pyrogens , endotoxins)

ในการทดลองนี้ใช้ Limulus amoebocyte lysate (LAL) test ในสภาวะเหมาะสม (37°C, pH ~ 6.0 – 7.5)

		Negative Control	Positive Control	Internal Positive	Test
LAL		0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
Endotoxin					
	Regular conc.	-	0 1 ml	-	-
	Double conc.	-	-	0.05 ml	-
Pyrogen free water		0.1 ml	-	-	-
Test		-	-	0.05 ml	0.1 ml

- เขย่าเบา ๆ และ mcubate ที่ 37°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กลับหลอดทดลอง 180°C พบว่า
  หลอดที่เป็น negative control ให้ผล ไม่เกิด gel (-ve)
  หลอดที่เป็น positive control ให้ผล เกิด gel (+ve)

<u>หมายเหตุ</u> :

1. LAL ได้จากการไฮโดรไลซีสของ amoebocytes, primitive circulatory blood cells of the horseshoe crab, Limulus polyphemus L. with N-ethylmaleimide.

2. อัตราการเกิดเจลขึ้นกับความเข้มข้นของ Endotoxin

Klebsiella endotoxin ng/ml	LAL gelation time, min
100	10-12
10	18-22
1	30-40
0.1	60-90

3. ตัวยับยั้งในการเกิดเจล (common inhibitor) ได้แก่
   - เมื่อ pH ไม่อยู่ในช่วง 6 – 7.5
   - benzyl alcohol > 1%
   - ^{131}I-Bromosulphothalein
   - ^{131}I-Rose Bengal
   - การเกิดเจลใช้เวลามากขึ้นเมื่อมีผลิตภัณฑ์โปรตีนปน เช่น ^{99m}Tc-HSA หรือ ^{125}I-HSA

4. ไม่ควรใช้ LAL ในการตรวจสอบหา endotoxemia in humans เพราะว่าในเลือดมีปัจจัยในการยับยั้งการเกิดเจล

(ผลทาง Sterility และ Pyrogen ดังตารางที่ 3)

2.3 การทำ Biodistribution

- นำเทคนิเซียม-99 เอ็มมาติดสลากกับ MDP (In House, SIGMA) โดยมีความแรงรังสีรวม 30 มิลลิคูรี และปริมาตรรวม 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

- ทำสารละลายให้เจือจางโดยใช้ 0 9% NaCl เป็นตัวทำละลาย (diluent) โดยให้สารละลายที่พร้อมจะเตรียมฉีดหนู rat (ขนาด 175-250 g) มีคุณสมบัติดังนี้

ความแรงรังสีที่จะฉีดหนู rat = 2 μCi – 2 mCi

ปริมาตรสารละลายที่จะฉีด <= 0.1 ml

- หลังจากฉีดหนู rat 1 ชั่วโมง ให้ฆ่าหนูและตัดเก็บอวัยวะตามต้องการ นำอวัยวะต่าง ๆ ไปวัดหาความแรงรังสี บันทึกผล คำนวณหา % Uptake ในแต่ละอวัยวะต่าง ๆ เปรียบเทียบผลระหว่าง MDP (In house, SIGMA) (ดัง Figure 2.)

3. การหาปริมาณเนื้อสารตั้งต้นของ MDP (In house, SIGMA)

- ชั่ง MDP (In house, SIGMA) 200 mg.

- ละลาย MDP ด้วยน้ำกลั่น 50 ml, เขย่าให้เข้ากัน, ใส่ magnetic bar

- ไตเตรทสารละลายด้วย 0.1 N NaOH โดยใช้ Automatic titration device เครื่องจะบันทึกค่า pH และปริมาตรของ NaOH หลังจากเติม NaOH แต่ละหยดลงในสารละลาย ไตเตรทจนกระทั่งถึงจุดยุติ

- นำผลที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ปริมาณเนื้อสารตั้งต้น MDP (ดังตารางที่ 4.)

<u>note</u> สารละลาย 0 1 N NaOH ต้องทำ Standardize ก่อน (ในการทดลองนี้ ใช้ KHP MWT = 204.23, 98% assay เป็น Titrand ทั้งนี้ใช้ Automatic titration device ในการหาความเข้มข้นที่แท้จริงของ 0.1 N NaOH)

4. การหาสภาวะเหมาะสมในการติดฉลากของ MDP (In house, SIGMA)

4.1 การหาความแรงรังสีที่มากที่สุดในการติดฉลาก MDP (In house, SIGMA)

- ติดสลาก MDP โดย: Activity = vary from min ⟶ max

  Volume = fix

- หลังจากติดสลาก 15 นาที หยดสารละลายเหมือนข้อ 1

  เพื่อเปรียบเทียบผล Radiochemical Purity ของ MDP (In house, SIGMA)

(ดัง Figure 3.)

4.2 การหาปริมาตรที่มากที่สุดในการติดฉลากของ MDP (In house, SIGMA)

- ติดสลาก MDP โดย : Volume = vary from min ⟶ max

  Activity = fix

- หลังจากติดสลาก 15 นาที หยดสารละลายเหมือนข้อ 1

  เพื่อเปรียบเทียบผล Radiochemical Purity ของ MDP (In house, SIGMA)

(ดัง Figure 4.)

4.3 การหาเวลาที่เหมาะสมหลังจากติดฉลากเพื่อนำมาใช้กับผู้ป่วย

- ติดสลาก MDP (In house, SIGMA) ด้วย Tc^{99m} ~ 30 mCi/2 ml. เขย่าให้เข้ากัน
- หลังจากติดสลาก 15 นาที, 1, 2 ..... 5 ชั่วโมง หยดสารละลายเหมือนข้อ 1

  เพื่อเปรียบเทียบผล Radiochemical Purity ที่เวลาต่าง ๆ กัน

(ดัง Figure 5.)

<u>ผลการทดลอง</u>

<u>ตารางที่ 1</u> การหาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีของสารประกอบติดฉลาก MDP โดยวิธีโครมาโตกราฟฟี

	SIGMA (2/36)	IN HOUSE (solution)
Tag with Tc^{99m}(mCi/ml)	33.58/2	31.67/2
pH	~ 5.5	~ 5.3
% TcO_4^-	0.12 ± 0.02	0.06 ± 0.01
% H.R.	0.30 ± 0.01	0.26 ± 0 01
% Radiochemical Purity	99.58 ± 0.02	99.68 ± 0.03

<u>ตารางที่ 2</u> การหาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีของสารประกอบติดสลาก MDP โดยวิธี Electrophoresis

	SIGMA (1/36)	IN HOUSE (solution)	TcO_4^-
Tag with Tc^{99m}(mCi/ml)	176.2/4.3	176.4/4.3	55.6/1
pH	~5.3	~5.3	~5.8
% TcO_4^-	3.83 ± 0.01	3.82 ± 0.02	98.64 ± 0.01
% H.R.	5.84 ± 0.02	1.86 ± 0.03	-
% Radiochemical Purity	90.33 ± 0.02	94.32 ± 0.04	-
Rf of TcO_4 (cm. ที่)	12-15	12-15	11-15
Rf of H.R (cm. ที่)	0	0	-
Rf of Cpx (cm. ที่)	4-11	4-11	-

note : MDP (SIGMA, IN HOUSE) ให้ main peak 1 peak (ดัง Figure ที่ 1)

<u>ตารางที่ 3</u> ผลทาง Sterility test และ Pyrogen test

MDP	Sterility Test	Pyrogen Test
SIGMA (1/36,2/36)	- ve	- ve
IN HOUSE	- ve	- ve

<u>หมายเหตุ</u> . Sterility Test . - ve = สารปลอดเชื้อ

Pyrogen Test · - ve = ไม่เกิดเจล ; สารปราศจากไพโรเจน

(Pyrogen Free)

<u>ตารางที่ 4</u> ปริมาณเนื้อสารตั้งต้น MDP ของ SIGMA และ In house โดยการไตเตรต

(The quantity of starting material MDP (SIGMA, In house) determined by titration method)

<u>MDP (Sigma, 2/36)</u>

Sample	MDP (mg)	V of NaOH (mL)	pH	End_{pt} ที่	K_a	MDP_{exp} (mg.)	% Yield	% Yield averag จาก	
								End_{pt} ที่ 1	End_{pt} ที่ 2
A	202.1	4 804	4.80	1	2	191 04	94 53	94 60 ± 0 07	94 79 ± 0 09
		7 219	8 41	2	3	191.39	94 70		
B	199 2	4 742	4.81	1	2	188.58	94 67		
		7.128	8 43	2	3	188.97	94.87		

จะเห็นว่าปริมาณเนื้อสารตั้งต้น MDP (SIGMA) ที่หาจากจุดยุติที่ 1 และ 2 ให้ผลใกล้เคียงกันคือ 94.60% และ 94.79% ตามลำดับ

<u>Note:</u>

A,B = ตัวอย่างของสารตั้งต้น MDP

MDP(mg.) = ปริมาณสารตั้งต้น MDP หน่วย มิลลิกรัม

V of NaOH = ปริมาตรของ NaOH หน่วย มิลลิลิตร (ml.)

End_{pt} = End point (จุดยุติ)

K_a = dissociation constant (ค่าคงที่ของการแตกตัว)

MDP_{exp} = ปริมาณเนื้อสารตั้งต้น MDP ที่ได้จากการทดลอง

% Yield = % ปริมาณเนื้อสารตั้งต้น MDP

% $Yield_{avx}$ = % เฉลี่ยปริมาณเนื้อสารตั้งต้น

MDP (IN HOUSE, Solution)

Sample	MDP (mg)	V of NaOH (ml.)	pH	End_{pt} ที่	K_a	MDP_{exp} (mg)	% Yield	% Yield averag จาก	
								End_{pt} ที่ 1	End_{pt} ที่ 2
A	201 6	4 809	4 76	1	2	191 24	94 86	94 87 ± 0 03	95 30 ± 0 00
B	199	4 746	4 81	1	2	188 74	94 84		
C	202 6	4 835	4 79	1	2	192 27	94 91		
		7 283	8 43	2	3	199 08	95.30		

จะเห็นว่าปริมาณเนื้อสารตั้งต้น MDP (In house) ที่หาจากจุดยุติที่ 1 และ 2 ให้ผลใกล้เคียงกันคือ 94.87% และ 95.30% ตามลำดับ

Note.

A,B,C = ตัวอย่างของสารตั้งต้น MDP

MDP(mg) = ปริมาณสารตั้งต้น MDP หน่วย มิลลิกรัม

V of NaOH = ปริมาตรของ NaOH หน่วย มิลลิลิตร (ml.)

End_{pt} = End point (จุดยุติ)

K_a = dissociation constant (ค่าคงที่ของการแตกตัว)

MDP_{exp} = ปริมาณเนื้อสารตั้งต้น MDP ที่ได้จากการทดลอง

% Yield = % ปริมาณเนื้อสารตั้งต้น MDP

$\%\ Yield_{avg}$ = % เฉลี่ยปริมาณเนื้อสารตั้งต้น

Standardize NaOH

ใช้ KHP = 204.23, 98% Assay ในการ standardize 0.1 NNaOH เพื่อหาความเข้มข้นที่แท้จริง

Sample	KHP(mg.)	V of NaOH (ml.)	pH	M of NaOH	M average of NaOH
A	123.4	1.348	8.22	0.4393	0.4519 ± 0.0089
B	122.3	1.307	8.33	0.4582	
C	122.3	1.300	8.63	0.4582	

ความเข้มข้นที่แท้จริงของ NaOH = 0.4519 M.

NOTE:

A,B,C, = ตัวอย่างของ KHP ที่นำมาทดลอง

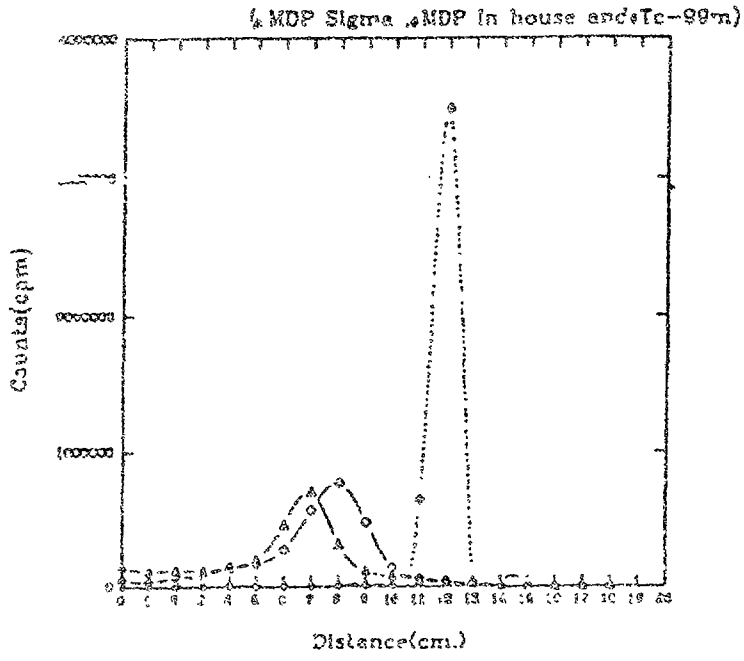
V of NaOH = ปริมาตรของ NaOH หน่วย มิลลิลิตร (ml.)

M of NaOH = ความเข้มข้นของ NaOH หน่วย mole/l.

M average of NaOH = ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของ NaOH หน่วย mole/l.

Figure 1. Electrophoresis results on 3 brands

(▲MDP Sigma ,●MDP In house and ◆Tc-99m)



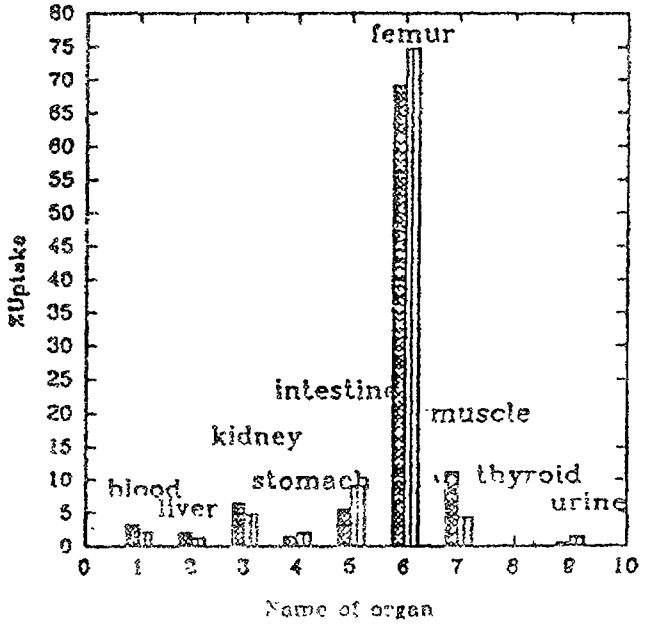
รูปที่ : ศึกษาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีของ ^{99m}Tc-MDP (SIMMA, In house) และ TcO_4^- โดยวิธีอิเลคโตรโฟเรซิส หลังจากติดสลาก 15 นาที

Media	:	whatman no. 1
Electrolyte	:	acetate buffer pH 7.0
Power supply	:	240 V
Running time	:	1 hr.

Distance , cm. ที่ 4-11 = main peak of ^{99m}Tc-MDP

cm. ที่ 11-13 = peak of TcO_4^-

Figure 2. Biodistribution of Tc^{99m}-MDP(SIGMA,IN HOUSE)



Note: ▒ = MDP (SIGMA)

▥ = MDP IN HOUSE)

จะเห็นว่าทั้ง MDP (SIGMA, In house) ให้ % uptake สูงสุดที่ femur มีค่าเท่ากับ 69.15% และ 74.75% ตามลำดับ

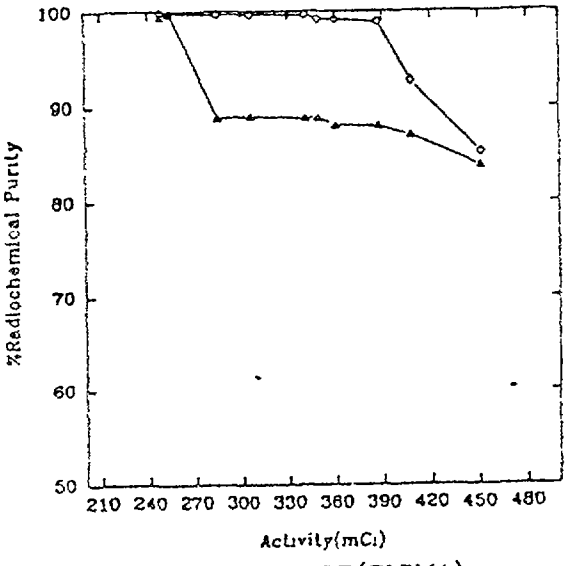
จากรูป ศึกษา Biodistribution ของ ^{99m}Tc-MDP (SIGMA, In house)

โดย : - ใช้หนู rat ที่มีน้ำหนัก = 175-250 g.

- ความแรงรังสีที่จะฉีดหนู = 2 μCi-2 mCi.

- ปริมาตรสารละลายที่จะฉีด < = 0.1 ml.

Figure 3. MDP(SIGMA,In house) & Max.Activity



Note. ▲ = MDP(SIGMA)

○ = MDP(In house)

ปริมาณความแรงรังสีสูงสุดของ Tc^{99m} ที่นำมาติดสลาก MDP(SIGMA) = 250 mCi

" " MDP (in house) = 400 mCi

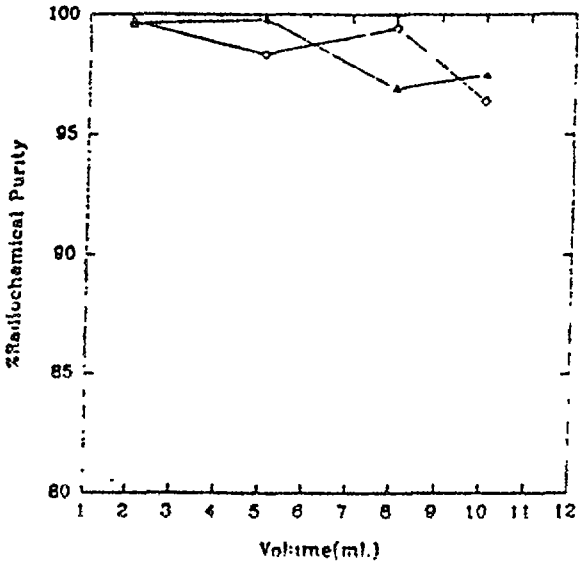
จากรูป : ศึกษาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีของ MDP (SIGMA, In house) หลังจากติดสลาก 15 นาที โดยการเปลี่ยนแปลงความแรงรังสี (mCi)

Activity of Tc^{99m} = vary

Volume of Tc^{99m} = constant

Method	Instant Thin Layer Chromatrography
Stationary phase	ITLC-SG
Mobile phase	Acetone, 0.9% NaCl

Figure 4. MDP(SIGMA,In house) & Max.Volume



Note: ▲ = MDP(SIGMA).

○ = MDP(In house)

ปริมาตรสูงสุดของ Tc^{99m} ที่นำมาติดสลาก MDP(SIGMA) = 10 ml.

" MDP (in house) = 10 ml.

จากรูป . ศึกษาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีของ MDP (SIGMA, In house) หลังจากติดสลาก 15 นาที โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาตรรังสี (ml.)

Volume of Tc^{99m} = vary

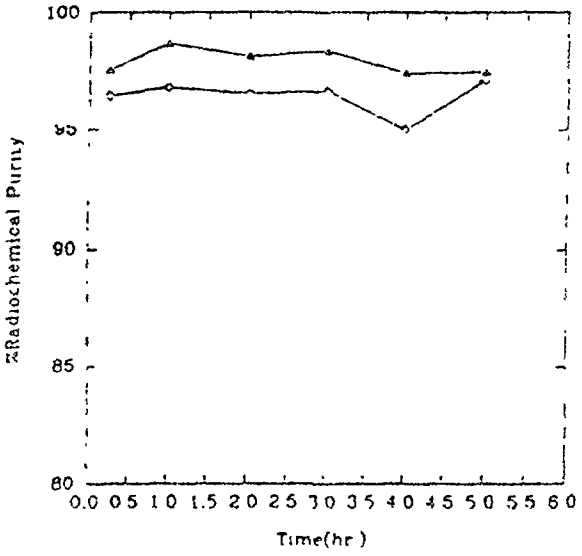
Activity of Tc^{99m} = constant

Method : Instant Thin Layer Chromatrography

Stationary phase : ITLC-SG

Mobile phase : Acetone, 0.9% NaCl

Figure 5. MDP(SIGMA.In house) & Time



Note: ▲ = MDP(SIGMA)

○ = MDP(In house)

Shelf life of ^{99m}Tc-MDP (SIGMA) = 15 นาที - 5 ชั่วโมง

"..... ....." ^{99m}Tc-MDP (in house) = 15 นาที - 5 ชั่วโมง

จากรูป : ศึกษาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีของ MDP(SIGMA, In house) หลังจากติดสลาก 15 นาที, 1, 2, ...5 ชั่วโมง ความแรงรังสี = 30 mCi/2 mL

Method : Instant Thin Layar Chromatrography

Stationary phase ITLC-SG

Mobile phase : Acetone, 0.9% NaCl

<u>วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง</u>

1. ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี (Radiochemical Purity) ของ MDP ทั้งของ SIGMA และ IN HOUSE อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดคือมีค่า > = 95.00 % ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของ USPXXII

2. ผลทาง Electrophoresis ของ MDP สรุปได้ดังนี้

SIGMA	IN HOUSE
- ให้ main peak 1 peak (ขึ้นที่ cm. ที่ 4-11)	- ให้ main peak 1 peak (ขึ้นที่ cm. ที่ 4-11) (ขึ้นที่ cm. ที่ 4-11)
- ให้ % Radiochemical Purity > = 95.00 %	- ให้ % Radiochemical Purity > = 95.00 %

3. ผลทางชีววิทยาของ MDP สรุปได้ดังนี้

3 1 Sterility Test : ทั้งของ SIGMA และ IN HOUSE ให้ Negative (-ve)

3.2 Pyrogen Test : ทั้งของ SIGMA และ IN HOUSE ให้ Nevative (-ve)

3.3 Biodistribution : - SIGMA ให้ % Uptake ที่ femure (Target organ) มากที่สุด ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ ให้ผล = 69.15%

- IN HOUSE ให้ % Uptake ที่ femur (Target organ) มากที่สุด ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ให้ผล = 74.75%

4. ปริมาณเนื้อสารตั้งต้นของ MDP (% Yield of MDP)

MDP (SIGMA) ให้ % Yield average = 94.60 ± 0.07% (คำนวณจาก End point ที่ 1)

= 94.79 ± 0.09 % (คำนวณจาก End point ที่ 2)

MDP (IN HOUSE) ให้ % Yield average = 94.87 ± 0.03 % (คำนวณจาก End point ที่ 1)

= 95.30 ± 0.00 % (คำนวณจาก End point ที่ 2)

5. ความแรงรังสีมากที่สุดในการติดสลาก (tag) MDP

SIGMA . Activity max ที่สามารถ tag ได้ = 250 mCi

IN HOUSE : Activity max ที่สามารถ tag ได้ = 400 mCi

6. ปริมาตรเทคนีเชียม-99เอ็มที่มากที่สุดในการติดสลาก (tag) MDP

- ทั้ง SIGMA และ IN HOUSE สามารถติดฉลากด้วย Volume max ได้ถึง 10 ml.

7. เวลาที่เหมาะสมหลังจากติดสลาก MDP

ทั้ง SIGMA และ IN HOUSE หลังจากติดสลากด้วยเทคนีเซียม-99เอ็ม ตั้งแต่ 15 นาที จนกระทั่งถึง 5 ชั่วโมง พบว่า % Radiochemical Purity ให้ผลอยู่ในช่วง 98.00 – 99 00 % ซึ่งมากกว่าเกณฑ์ที่กำหนด (Limit:%RCP) > = 95.00 %

Shelf life of MDP (SIGMA, IN HOUSE) = 15 นาที - 5 ชั่วโมง หลังจากติดฉลาก

<u>เอกสารอ้างอิง</u>

1. A. Najafi and N. Hutchison, 1985. Electrophoretic Analysis of Different Technetiun 99m ($SnCl_2$) Methylene Diphosphonate complex Journal of Nuclear Medicine. 524-530.

2 Authority of the United States Pharmacopcial. Techetum Tc99m Medronate Injection. USRXXII. 1316.

3. Trent Phan, Richard Wasnich. 1981.. . . . Practical Nuclear Pharmacy 11, 13, 17, 19, 40.