

HPLC 法测定⁹⁹Tc-亚甲基二膦酸盐注射液 A 剂中高锝酸盐含量

叶肇云, 赵秀岩, 姜 华, 赵 岩

(原子高科股份有限公司, 北京 102413)

摘要: 为了建立测定锝[⁹⁹Tc]亚甲基二膦酸盐注射液 A 剂中高锝酸盐(⁹⁹TcO₄⁻)含量的高效液相色谱分析法(HPLC), 对色谱柱、流动相和检测波长等实验条件进行了选择。实验确定, HPLC 采用 XTerra RP18 为色谱柱, pH 5.5 0.03 mol/L HAc-NaAc 缓冲溶液为流动相, 流速 1.0 mL/min, 检测波长为 248 nm, 保留时间 2.2 min, 检测下限 1 ng(以⁹⁹Tc 计)。结果显示, 本方法的回收率为 90%~97%, 相对标准偏差 < 2%。

关键词: 高效液相色谱法(HPLC); 高锝[⁹⁹Tc]酸盐; 紫外检测

中图分类号: O657.72; TQ463.7 文献标志码: A 文章编号: 1000-7512(2008)03-0165-04

Determination of Pertechnetate in ⁹⁹Tc-methylenediphosphonate Injection by HPLC

YE Zhao-yun, ZHAO Xiu-yan, JIANG Hua, ZHAO Yan

(Atom High Tech Co. Ltd., Beijing 102413, China)

Abstract: The determination of pertechnetate in technetium [⁹⁹Tc] methylenediphosphonate injection by HPLC was proposed. The effects of analytical column, eluent and detection wavenegth were studied. An XTerra RP18 column, 0.03 mol/L HAc-NaAc as mobile phase with a flow rate of 1.0 mL/min and the detection wavenegth of 248 nm were selected. The retention time of ⁹⁹TcO₄⁻ was 2.2 min and the detection limit of ⁹⁹Tc was 1 ng. The range of the recovery was 90%~97%, and the relative standard diversion was < 2%.

Key words: high performance liquid chromatography(HPLC); pertechnetate; ultra-violet determination

锝[⁹⁹Tc]亚甲基二膦酸盐注射液是一种抗风湿药物, 在临床上具有较好的疗效。该药物由 A 剂和 B 剂组成, A 剂为含微量高锝酸盐(⁹⁹TcO₄⁻)的生理盐水注射液, B 剂为亚锡亚甲基二膦酸盐冻干品。⁹⁹TcO₄⁻含量的测定是该药物质量控制的一项重要指标。对于⁹⁹TcO₄⁻含

量的测定, 文献报道的方法有高效液相色谱(HPLC)^[1-4]、低本底液闪法^[2-3]和分光光度法^[5]等。与其它几种方法相比, HPLC 法具有分辨率和灵敏度高、分析速度快、重复性好和定量精度高等优点。本工作拟采用反相高效液相色谱法, 对锝[⁹⁹Tc]亚甲基二膦酸盐药物 A 剂中

$^{99}\text{TcO}_4^-$ 的含量进行测定,对所用色谱柱、流动相、紫外检测波长等条件进行选择。

1 实验材料

1.1 主要试剂

甲醇:色谱纯,北京化学试剂公司;乙酸、乙酸钠:分析纯,北京化学试剂公司; $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 对照品:纯度 $>98\%$,俄罗斯 MAYAK 公司;水:自制二次蒸馏水。

1.2 主要仪器

高效液相色谱仪:美国 Waters 公司,包括 2487 型双波长紫外检测器,515 型色谱泵,7725i 手动进样器和 MILLENNIUM32 色谱工作站;UV-2450 紫外可见分光光度计、1 cm 石英比色皿;苏州岛津公司;AT240 电子天平:十万分之一,瑞士 Mettler 公司。

1.3 溶液配制

$\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 对照品溶液的配制:精密称量 10.2 mg 对照品 $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$,加水溶解,置于 5 mL 容量瓶中,稀释至刻度,摇匀, ^{99}Tc 浓度为 1.0 g/L。精密量取 1.0 mL 1.0 g/L $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 溶液,置于 1 000 mL 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀, ^{99}Tc 浓度为 1.0 mg/L。

$\text{Na}^{99}\text{TcO}_4$ 对照品系列溶液的配制:取 1.0 mg/L $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 溶液,用生理盐水稀释成 0.008、0.010、0.015、0.020、0.030 mg/L $\text{Na}^{99}\text{TcO}_4$ 系列对照品溶液。

2 分析方法

采用反向 HPLC 法分析样品的 $^{99}\text{TcO}_4^-$ 含量,分析条件为:Waters 公司 XTerra RP18 色谱柱(5 μm , 3.9 mm \times 150 mm);流动相为 0.03 mol/L pH 5.5 乙酸-乙酸钠(HAc-NaAc)缓冲溶液,流速 1.0 mL/min,对照品溶液进样量为 5 μL 1.0 mg/L $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$,紫外检测波长 248 nm,常温(约 25 $^\circ\text{C}$)操作。

3 结果与讨论

3.1 流动相的选择

分析方法中改变流动相的浓度和酸度,其它条件不变,对 $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 对照品溶液进行 HPLC 分析,以考察不同流动相对本方法灵敏度的影

响,流动相和 $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 峰面积积分结果列于表 1。实验表明,用 6 种不同流动相进行分离的分离度和峰形基本相似,以 0.03 mol/L pH 5.5 HAc-NaAc 为流动相时, $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 峰面积相对较大,灵敏度较高。

表 1 流动相对灵敏度的影响

序号	流动相	$\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 峰面积
1	0.01 mol/L HAc-NaAc(pH 5.0)	41 788
2	0.02 mol/L HAc-NaAc(pH 5.0)	44 692
3	0.03 mol/L HAc-NaAc(pH 5.0)	49 315
4	0.03 mol/L HAc-NaAc(pH 4.5)	49 185
5	0.03 mol/L HAc-NaAc(pH 5.5)	51 397
6	0.03 mol/L HAc-NaAc(pH 6.0)	50 433

注:检测波长 254 nm

3.2 流速的影响

锝[^{99}Tc]亚甲基二膦酸盐注射液 A 剂的主要成份为生理盐水和微量的 $\text{Na}^{99}\text{TcO}_4$,还可能含有试剂和生产中引入的少量杂质,0.9% NaCl 生理盐水在实验选定的测定波长处无紫外吸收,但在色谱分析中发现有少量杂质峰,对 $^{99}\text{TcO}_4^-$ 的测定基本无影响。实验以 $^{99}\text{TcO}_4^-$ 与最为邻近的杂质峰的分度大于 1.5 为目标,考察流速分别为 0.3、0.5、1.0 mL/min 时对 $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 峰保留时间和分离的影响,结果 $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 峰保留时间分别为 7.20、4.03、2.25 min。流速降低,分离度变高,谱峰变宽,但因本方法采用水溶液作流动相,总操作时间延长,易造成色谱柱失活,使保留时间改变,因流速为 1.0 mL/min 时,分离度和色谱柱活性符合要求,故本实验采用流速条件为 1.0 mL/min。

3.3 色谱柱的选择

在流动相和其它色谱条件相同的情况下,在色谱仪中注入相同量的 $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 对照品溶液,对 C8 与 C18 色谱柱进行比较,结果列于表 2。C8 柱的保留时间适中,并且 $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 峰面积积分值较大,灵敏度优于 C18 柱,但本实验中所用的 C8 柱随操作时间的延长,固定相出现失活现象, $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 峰的保留时间不断缩短,最终 $\text{K}^{99}\text{TcO}_4$ 在柱上无保留,所以本实验选用稳定性、重复性好的 C18 色谱柱。

表 2 色谱柱的比较

柱型	色谱柱型号与规格	K ⁹⁹ TcO ₄ 保留时间/min	K ⁹⁹ TcO ₄ 峰面积
C8	Kromasil C8 5 μm, 4.6 mm×250 mm	4.65	56 115
C18	XTerra RP18 5 μm, 3.9 mm×150 mm	2.25	51 397

注: 流速 1 mL/min, 检测波长 254 nm

3.4 检测波长的选择

在 200~400 nm 波长范围内, 采用紫外可见分光光度计对 1.0 mg/L K⁹⁹TcO₄ 对照品溶液进行扫描, 结果示于图 1。由图 1 可见, K⁹⁹TcO₄ 的最大吸收峰出现在 248 nm。

HPLC 分析 K⁹⁹TcO₄ 时, 检测波长为 248 nm 时的峰面积是 254 nm 时的 1.2 倍, 最终选择 248 nm 为 HPLC 的测定波长。

3.5 工作曲线

分别对 200 μL 浓度为 0.008、0.010、0.015、0.020、0.030 mg/L Na⁹⁹TcO₄ 对照品溶液进行 HPLC 分析, 制作工作曲线。以 Na⁹⁹TcO₄ 浓度为横坐标, Na⁹⁹TcO₄ 对照品峰面

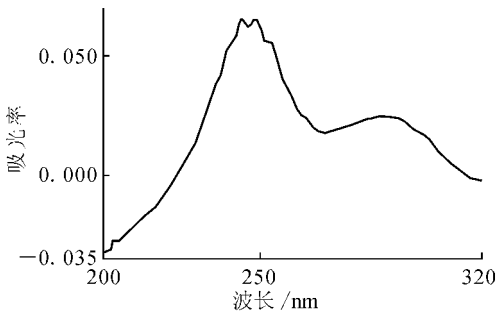


图 1 K⁹⁹TcO₄ 对照品紫外分光光度计扫描图

积为纵坐标, 进行线性回归, 得到线性方程为 $y = 867.365x - 740$, $r = 0.9995$ 。此结果表明,

Na⁹⁹TcO₄ 浓度在 0.008~0.030 mg/L 内, Na⁹⁹TcO₄ 对照品峰面积与 Na⁹⁹TcO₄ 浓度有良好的线性关系。

3.6 方法的精密度与回收率

取 Na⁹⁹TcO₄ 供试品 2 瓶, 每瓶每次取 200 μL 注入色谱仪, 记录谱图, 重复操作 6 次, 由线性方程计算 Na⁹⁹TcO₄ 含量。结果显示, 供试瓶中 Na⁹⁹TcO₄ 含量分别为 102.3%±1.7% 和 97.5%±1.0%, 即相对标准偏差 < 2%, 说明该方法的精密度良好, 符合检测要求。

取 3 份 Na⁹⁹TcO₄ 标示量为 0.01 mg/L 的 A 剂样品, 在其中加入高浓度的 K⁹⁹TcO₄ 对照品溶液配制成浓度为 0.014 7、0.019 7、0.024 7 mg/L 的溶液作为供试品。取供试品溶液 200 μL 进行 HPLC 分析, 记录谱图, 由线性方程计算供试品中 Na⁹⁹TcO₄ 的浓度, 计算回收率, 结果列于表 3。由表 3 可见, 实验回收率为 90%~97%, 即回收率良好, 符合检测要求。

表 3 方法回收率实验 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

配制浓度/(mg·L ⁻¹)	测得浓度/(mg·L ⁻¹)	回收率/%
0.014 7	0.013 3±0.000 4	90.7±2.6
0.019 7	0.018 7±0.000 4	95.1±1.9
0.024 7	0.023 8±0.000 1	96.2±0.6

3.7 样品测定

取 Na⁹⁹TcO₄ 标示量为 0.01 mg/L 的 A 剂样品, 采用 pH 5.5 0.03 mol/L HAc-NaAc 缓冲液为流动相, XTerra RP18 色谱柱, 流速为 1.0 mL/min, 分离时间为 3 min, 检测波长为 248 nm 的条件下进行 HPLC 测定, 色谱图示于图 2。图 2 中, 保留时间为 2.159 min 的峰为 ⁹⁹TcO₄⁻, 由工作曲线计算 A 剂样品中 Na⁹⁹TcO₄ 的量, 结果列于表 4。由表 4 可见, Na⁹⁹TcO₄ 的测定值可达标示量的 90%~110%, 表明 HPLC 条件符合检测要求。

表 4 样品测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

批号	Na ⁹⁹ TcO ₄ 标示量/(mg·L ⁻¹)	Na ⁹⁹ TcO ₄ 测定量/(mg·L ⁻¹)	Na ⁹⁹ TcO ₄ 含量/%
20050601	0.01	0.009 55 ± 0.000 19	95.5±1.9
20050701	0.01	0.009 81 ± 0.000 20	98.1±2.0
20050801	0.01	0.010 06 ± 0.000 12	100.1±1.2

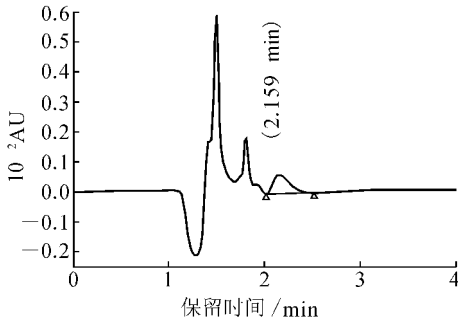


图 2 $\text{Na}^{99}\text{TcO}_4$ 样品测定的 HPLC 色谱图

4 小 结

本实验采用 XTerra RP18 为色谱柱, pH 5.5 0.03 mol/L HAc-NaAc 缓冲液为流动相, 流速为 1.0 mL/min, 分离时间为 3 min, 检测波长 248 nm 的条件, 建立了 HPLC 法, 用以测定 $\text{Na}^{99}\text{TcO}_4$ 注射液中 $^{99}\text{TcO}_4^-$ 的含量。本方法相对标准偏差 $< 2\%$, 回收率为 $90\% \sim 97\%$, 工作曲线的线性方程为 $y = 867\ 365x - 740$, $r = 0.999\ 5$, $\text{Na}^{99}\text{TcO}_4$ 含量为 $0.008 \sim 0.03$ mg/L,

$\text{Na}^{99}\text{TcO}_4$ 对照品峰面积与 $\text{Na}^{99}\text{TcO}_4$ 浓度有良好的线性关系。

参考文献:

- [1] DANIEL JH, THOMAS CP. Reversed-Phase HPLC of ^{99m}Tc Methylene Diphosphonate Bone Imaging Kits With Quantification of Per technetate [J]. Appl Radiat Isot, 1986, 37(7):593-598.
- [2] 刘宁, 张叔渊, 金建南, 等. HPLC 对 $^{99}\text{Tc}^m$ 发生器洗脱液中高锝酸盐的分析和测定 [J]. 核化学与放射化学, 1995, 17(3):170-174.
- [3] 刘宁, 金建南, 张叔渊, 等. 抗类风湿药物锝克湿 A 剂中高锝酸盐的高效液相色谱测定 [J]. 四川大学学报, 1995, 32(4):406-410.
- [4] JULIUS PZ, WILLIAM RH, WILLIAM TG, et al. Quantitative Determination of Per technetate by High-Performance Liquid Chromatography With UV Detection [J]. J Chromatog, 1982, 227:249-255.
- [5] 贾永芬, 朱志瑄, 张丕禄. 四价锝的制备与性质 [J]. 原子能科学技术, 1999, 33(3):223-227.

专利简讯:

个人剂量计校准全景照射装置

【公开日】2008.04.09

【分类号】G01T1/02

【公开号】CN101158722

【申请日】2006.02.10

【申请号】200610002898.1

【申请人】中国人民解放军 63960 部队

【文摘】本发明是一台装载活度不大于 $11.1\ \text{GBq}(300\ \text{mCi})^{137}\text{Cs}$ 源的个人剂量计校准全景照射装置。使用圆快门技术打开和关闭屏蔽通道, 利用长行程气缸快速将放射源从储源罐顶出, 放置个人剂量计的多照射位旋转平台围绕放射源转动, 保证了均匀地照射剂量计, 依靠远地控制器控制装置的运行(包括设置照射时间进行自动照射), 设立安全门杠、声光报警以及源到位测试, 加强系统的安全性。本发明可用于单个或批量 X、 γ 个人剂量计(包括 TL 片)的测试、校准, 可放置各种探测元件构成的、各种大小和形状的有源或无源个人剂量计进行照射, 可用于放射性计量检定校准部门作为标准装置, 也可用于核电厂等核设施领域、医疗领域以及专门从事个人剂量服务部门的个人剂量计的校准。

(摘自中国专利数据库)