

การตั้งสูตรตำรับยาฉีด เทคโนโลยีเชื่อม 99 เอ็ม ซัคซิเมอร์



นางสาวนภวรรณ เจนใจ

ศูนย์วิทยพัทยาการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเภสัชกรรม

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2536

ISBN 974-583-423-8

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

018817 i 17375A60

FORMULATION OF TECHNETIUM 99-m SUCCIMER INJECTION



Miss Noppavan Janejai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Pharmacy

Graduate School

Chulalongkorn University

1993

ISBN 974-583-423-8

Thesis Title Formulation of Technetium 99-m Succimer Injection
By Miss Noppavan Janejai
Department Pharmacy
Thesis Advisor Associate Professor Rawadee Dhumma-upakorn
Co-Advisor Miss Wiyada Charoensiriwatana



Accept by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

Thavorn Vajrabhaya Dean of Graduate School
(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D)

Thesis Committee

Uthai Suwanakoot Chairman
(Associate Professor Uthai Suwanakoot, Ph.D)

Rawadee Dhumma-upakorn Thesis Advisor
(Associate Professor Rawadee Dhumma-upakorn, M.Eng. in Nuclear Tech.)

Wiyada Charoensiriwatana Co-Advisor
(Miss Wiyada Charoensiriwatana, M.Sc in Pharmaceutical Analysis)

Ubonthip Nimmannit Member
(Associate Professor Ubonthip Nimmannit, Ph.D)

Yaowapa Wairaksat Member
(Associate Professor Yaowapa Wairaksat, Ph.D)

นกวรณ เจนใจ : การตั้งสูตรตำรับยาฉีดเทคนิคเนียม 99 เอ็ม ซัคซิเมอร์ (Formulation of Technetium 99m Succimer Injection) อ.ที่ปรึกษา : รศ. เหวดี ธรรมอุปกณ์ อ.ที่ปรึกษาร่วม : นางสาววิยะดา เจริญศิริวัฒน์ , 126 หน้า. ISBN 974-583-423-8

ได้ทำการตั้งสูตรตำรับยาฉีด เทคนิคเนียม 99 เอ็ม ซัคซิเมอร์ ในส่วนของสูตรตำรับสำเร็จรูปพร้อมใช้ ในการติดฉลาก ในรูปผงแห้ง (lyophilized form) ในขวดยาฉีด บรรจุในโครเจน สูตรที่ 1 มีส่วนผสมของซัคซิเมอร์ และแอสทอนัสคลอไรด์ ในอัตราส่วนโมล 3:1 มีค่า ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 2.5 สูตรที่ 2 เพิ่มกรดแอสคอบิก ส่วนสูตรที่ 3 นั้น เพิ่มกรดแอสคอบิก และ อินอสิตอล จากนั้นจึงทำการประเมินคุณภาพของตำรับทั้งสาม ที่เวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน หลังจากการเตรียม โดยการติดฉลากด้วยสารกัมมันตรังสี เทคนิคเนียม 99 เอ็ม และวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ทางรังสีเคมี (Radiochemical purity) โดยวิธีของเภสัชตำรับ USP XXII จากผลการวิเคราะห์ พบว่า ภายในเวลา 3 เดือน ผลการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ทางรังสีเคมี ของทั้ง 3 ตำรับ อยู่ในมาตรฐานของ USP XXII แต่เมื่อทำการ ศึกษาเปรียบเทียบการกระจายตัวของยาในหนูทดลอง ระหว่างตำรับชุดที่วิเคราะห์ทันทีหลังจากเตรียม และ ตำรับชุดที่ เก็บไว้ 3 เดือน พบว่า ตำรับที่ 1 มีความแตกต่างของการกระจายตัวในไตอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในขณะที่ ไม่พบความแตกต่างดังกล่าวในตำรับที่ 2 และ 3 ซึ่งแสดงว่ากรดแอสคอบิกในตำรับที่ 2 และ 3 มีผล ในการรักษา ความคงตัวของตำรับ ซึ่งผลข้อนี้ควรจะเนื่องมาจากฤทธิ์การเป็นแอนติออกซิแดนท์ของกรดแอสคอบิก และ พบว่า ปริมาณกรดแอสคอบิกในช่วงที่ทำการทดสอบ คือ ร้อยละ 0.018 ถึง 0.28 เป็นปริมาณที่สามารถใช้ในการรักษา ความคงตัวของตำรับได้ การศึกษาความคงตัวของสารติดฉลาก เทคนิคเนียม 99 เอ็ม ซัคซิเมอร์ หลังทำการ ติดฉลาก พบว่า สารติดฉลากจากตำรับที่ 2 และ 3 มีความคงตัวดีในช่วง 180 นาที และความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับ ตำรับ ที่ 2 ในช่วงเวลาจาก 180 นาที ถึง 24 ชั่วโมง นั้น สังเกตได้ชัดเจนกว่าตำรับที่ 3 ผลการทดลอง ดังกล่าวแสดงว่า อินอสิตอลนั้น นอกจากเป็นสารเพิ่มปริมาณแล้ว ยังสามารถช่วยป้องกันการสลายตัวของสารติดฉลาก ซึ่งอาจเกิดจาก การเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวโดยกัมมันตภาพรังสีได้อีกด้วย ตำรับที่ 3 จึงเป็นตำรับที่เหมาะสมจะนำไปใช้กับผู้ป่วย ในการถ่ายภาพรังสีแกมมาของไต ซึ่งสามารถใช้ได้หลังทำการติดฉลากแล้วนานถึง 180 นาที ในกรณีที่ยังคงมีความ เข้มข้นของกัมมันตภาพรังสีเพียงพอ ดังนั้น การเตรียมยาฉีด เทคนิคเนียม 99 เอ็ม ซัคซิเมอร์ ในรูปตำรับสำเร็จรูป พร้อมใช้ ตามสูตรตำรับที่ 3 สามารถทำได้โดยวิธีการที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพและความคงตัวดี อย่างไม่ก็ตาม ประสิทธิภาพของเครื่องมือที่ใช้ เช่น เครื่องทำแห้ง อาจมีผลต่อคุณภาพของตำรับได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาควิชา เภสัชกรรม
สาขาวิชา เภสัชกรรม
ปีการศึกษา 2536

ลายมือชื่อนิสิต ทรนณ 17/3/86
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รศ. เหวดี ธรรมอุปกณ์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ. วิยะดา เจริญศิริวัฒน์



C375058 : MAJOR PHARMACY

KEY WORD: FORMULATION/TECHNETIUM 99-m SUCCIMER/INJECTION

NOPPAVAN JANEJAI : FORMULATION OF TECHNETIUM 99-m SUCCIMER INJECTION.

THESIS ADVISOR : ASSO.PROF.RAWADEE DHUMMA-UPAKORN, CO-ADVISOR :

MISS WIYADA CHAROENSIRIWATANA, 126 pp. ISBN 974-583-423-8

Three formulations of Ready-To-Use kit for preparation of Technetium Tc 99m Succimer Injections have been prepared in lyophilized form and packed in nitrogen atmosphere. The formulation 1 contained succimer and stannous chloride by the mole ratio of 3:1, pH 2.5. The formulation 2 and 3 have been prepared on the same basis except the ascorbic acid was added in the formulation 2 and both ascorbic acid and inositol were added in the formulation 3. The qualities of the formulations were evaluated at time 0, 1, 2 and 3 month(s) after preparations by labeling with ^{99m}Tc and analyzed for radiochemical purity using the procedures in USP XXII. The radiochemical purities of the three formulations tested during three month period were within the USP standards. However, when comparing the biodistribution of the preparation in rats between the freshly prepared formulations and the three month old formulations, there was significant difference in kidney distribution of formulation 1 ($p < 0.05$) but the difference was not found with the formulation 2 and 3. The ascorbic acid in the formulation 2 and 3 can stabilize the formulations, which should be because of the antioxidant property. The amount of ascorbic acid ranges from 0.018 % to 0.28 % has been proved to be effective for stabilizing the formulations. Furthermore, it was found that the labeled Technetium Tc 99m Succimer products from the formulation 2 and 3 were stable within 180 minutes. The change occurred with formulation 2 during 180 minute to 24 hour duration was greater than that occurred with formulation 3. Thus, besides the use of inositol as bulking agent for lyophilization in the formulation 3, it can protect the labeled products from the decomposition accelerated by the radioactivity. The formulation 3 is suitable for use as a succimer cold kit for preparation of ^{99m}Tc labeled succimer for renal scanning agent. The labeled preparation can be used up to 180 minutes in case the radioactive concentration is high enough. Thus, the Ready-To-Use kit for preparation of Technetium Tc 99m Succimer Injection according to the formulation 3 can be simply prepared. The product has good quality and stability. However, the efficiency of the equipment such as lyophilizer might affect the properties of the product.

ภาควิชา.....เภสัชกรรม.....

ลายมือชื่อนิสิต.....*ปิยนันท์ ใจดี*.....

สาขาวิชา.....เภสัชกรรม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....*นางฉวีวรรณ อึ้ง*.....

ปีการศึกษา.....2536.....

ลายมือชื่อคณาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....*วิไลวรรณ ใจดี*.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I am deeply indebted to my advisor, Associate Professor Rawadee Dhumma-upakorn, for her valuable guidance, initiating idea, constructive criticism through my study. I would like to express my most profound gratitude to her.

I would like to express my gratefulness to Miss Wiyada Charoensiriwatana, Health Science Research Institute, Department of Medical Sciences, co-advisor, for her valuable suggestion and support.

I would like to express my sincere gratitude to Dr. Nantiya Chandrapitak, Dr Yuttana Sangsuda and Miss Jiraporn Iamjura, Nuclear Medicine Division, Rajvidhi Hospital, for providing very useful informations and kindly offering of ^{99m}Tc . Thanks are also given to Miss Soithip Roengsawat, Miss Karnchana Yeesunsri and all the staff members of the division for their kind helpfulness.

My special thanks is given to Dr. Saijai Chuensuk, Animal Experiment Center, Health Science Research Institute, Department of Medical Sciences, for her very useful instruction on dissection of the experimental animals.

Finally, I would like to express my grateful thanks to Chulalongkorn University Graduate School for granting partial financial support.



CONTENTS

	Page
Thai abstract	IV
English abstract	V
Acknowledgement	VI
Contents	VII
List of tables	VIII
List of figures	XII
List of abbreviations	XV
Chapter	
I Introduction	1
II Basic principle	6
III Materials and methods	27
Materials	27
Methods	30
Calibration of assay systems	30
Formulation	34
Evaluation of the formulations	37
Studies on the factors affecting the quality of the formulations	39
IV Results and Discussion	44
V Conclusions	89
References	91
Appendices	96
Vitae	126

LIST OF TABLES

Table	Page
1	The Rf value of the main radiochromatographic bands of pertechnetate and standard ^{99m}Tc -DMSA complexes 48
2	
2.1	Total % radioactivity of the chromatographic segments at different relative Rf ranges from 3 succimer cold kit formulations assayed after freshly prepared (month=0) 59
2.2	Total % radioactivity of the chromatographic segments at different relative Rf ranges from 3 succimer cold kit formulations assayed at one month storage (month=1) 60
2.3	Total % radioactivity of the chromatographic segments at different relative Rf ranges from 3 succimer cold kit formulations assayed at two month storage (month=2) 61
2.4	Total % radioactivity of the chromatographic segments at different relative Rf ranges from 3 succimer cold kit formulations assayed at three month storage (month=3) 62
3	Means, standard deviations and % coefficient of variations of the % labeled amount of the formulations by using the data from six different sampling times. 63

LIST OF TABLES(con.)

Table	Page
4	Summarized results of the comparison of the % labeled amounts of 3 formulations taken from different storage times 64
5	Summarized results of the comparison of the % labeled amount of each of 3 formulations at different storage time and different post labeling time. The comparison was performed by ANOVA 65
6	
6.1	Biodistribution tests of ^{99m}Tc -DMSA Injections. The tests were performed using freshly prepared formulation 1 68
6.2	Biodistribution tests of ^{99m}Tc -DMSA Injections. The tests were performed using freshly prepared formulation 2 69
6.3	Biodistribution tests of ^{99m}Tc -DMSA Injections. The tests were performed using freshly prepared formulation 3 70
7	
7.1	Biodistribution tests of ^{99m}Tc -DMSA Injections. The tests were performed using the three months old formulation 1 71
7.2	Biodistribution tests of ^{99m}Tc -DMSA Injections. The tests were performed using the three months old formulation 2 72
7.3	Biodistribution tests of ^{99m}Tc -DMSA Injections. The tests were performed using the three months old formulation 3 73

LIST OF TABLES(con.)

Table	Page
8	Summarized statistical tests for differences of the organ distributions among the 3 succimer formulations. The tests were performed by ANOVA at significant level of 0.05 74
9	Summarized statistical tests for differences of the organ distributions between the freshly prepared and three months old formulations . . . 75
10	Total radioactivity of each chromatographic segment at different Rf ranges from three succimer cold kit formulations after three month storage. The assays were performed using chromatographic system II . 79
11	Total radioactivity of each chromatographic segment at different Rf range obtained from the 5 succimer preparations with different concentrations of ascorbic acid. 83
12	Summarized results of the comparison of ^{99m} Tc-DMSA occurred in the presence of 5 concentrations of ascorbic acid at different post labeling time. 84
13	Total radioactivity of each chromatographic segment at different Rf range from the second batch of 3 succimer cold kit formulations. The kits were assayed early after preparations by using chromatographic system II 88
14	Data for evaluation of the formulations 97

LIST OF TABLES(con.)

Table	Page
15	Data for the studies on the factors affecting the quality of the formulations (first batch) 109
16	Data for the studies on the factors affecting the quality of the formulations (second batch). 112
17	Data of the studies on the factors affecting the quality of the formulations : Determination of optimum amount of ascorbic acid . . . 115
18	Table of sample value for one-way ANOVA 117
19	ANOVA table (one-way) 118
20	Table of sample value for two-way ANOVA 119
21	Two-way ANOVA table 120
22	Example of calculation in table 4 121
23	Example of calculation in table 5 122
24	Example of calculation in table 8 123
25	Example of calculation in table 9 124
26	Example of calculation in table 12 125



LIST OF FIGURES

Figure	Page
1 The structural formula of Succimer.	10
2 Formulation of possible Tc-DMSA complexes and maximum absorbances	13
3 Simple system for paper chromatography	24
4 The flow chart of experimental procedures	43
5 The radiochromatograms of the pertechnetate (A), commercial standard $^{99m}\text{Tc(III)-DMSA}$ (B,C,D), $^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$ (E) and $^{99m}\text{Tc(III)-DMSA}$ labeled with excess of Sn(II) (F,G) obtained from assay system I and visualized by autoradiography	46
6 The radiochromatograms of the pertechnetate (A), commercial standard $^{99m}\text{Tc(III)-DMSA}$ (B,C,D,E), $^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$ (F) and $^{99m}\text{Tc(III)-DMSA}$ labeled with excess of Sn(II) (G) obtained from assay system II and visualized by autoradiography	47
7 The plots of activity distributions versus Rf values of the pertechnetate standard, commercial $^{99m}\text{Tc(III)-DMSA}$, $^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$ and $^{99m}\text{Tc-}$ DMSA labeled with excess of Sn(II) obtained from assay system I measured by strip cut-and-count method.	49

LIST OF FIGURES(con.)

Figure	Page
8	The plots of activity distributions versus Rf values of the pertechnetate standard, commercial $^{99m}\text{Tc(III)-DMSA}$, $^{99m}\text{Tc(V)-DMSA}$ and $^{99m}\text{Tc-DMSA}$ labeled with excess of Sn(II) obtained from assay system II measured by strip cut and count method. 50
9	
9.1	The radioactivity distribution plots of the radiochromatograms of three succimer formulations after labeling times of 15, 30, 60, 90, 120 minutes and 24 hours when assayed after freshly prepared. The assay were performed using chromatographic system I. 55
9.2	The radioactivity distribution plots of the radiochromatograms of three succimer formulations after labeling times of 15, 30, 60, 90, 120 minutes and 24 hours when assayed after one month storage. The assay were performed using chromatographic system I. 56
9.3	The radioactivity distribution plots of the radiochromatograms of three succimer formulations after labeling times of 15, 30, 60, 90, 120 minutes and 24 hours when assayed after two month storage. The assay were performed using chromatographic system I. 57

LIST OF FIGURES(con.)

Figure	Page
9.4 The radioactivity distribution plots of the radiochromatograms of three succimer formulations after labeling times of 15, 30, 60, 90, 120 minutes and 24 hours when assayed after three month storage. The assay were performed using chromatographic system I.	58
10 The radioactivity distribution plot of the radiochromatograms of the three succimer formulations assayed after three month storage. The assays were performed using chromatographic system II.	78
11 Effect of various amounts of ascorbic acid on the properties of ^{99m} Tc-DMSA at 15 minutes, 180 minutes(3 hr) and 24 hours after labeling	82
12 The radioactivity distribution plots of the chromatograms of the second batch of three succimer formulations assayed after freshly prepared. The assays were performed using chromatographic system II.	87

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ABBREVIATIONS

ANOVA	=	analysis of variance
BP	=	The British Pharmacopoeia
CV	=	coefficient of variation
DMSA	=	meso-2,3-dimercaptosuccinic acid
mCi	=	millicurie
GBq	=	Gigabecquerel
hr	=	hour
M	=	Mole/Liter
MBq	=	Megabecquerel
mg	=	milligram
ml	=	milliliter
min	=	minute
Rf	=	ratio of front
SD	=	standard deviation
Sn	=	stannous (Tin)
^{99m} Tc	=	Technetium Tc 99m
USP	=	The United State Pharmacopoeia
V	=	volume