



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201217823 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 05 月 01 日

(21)申請案號：099135930

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 10 月 21 日

(51)Int. Cl.：

G01T1/161 (2006.01)

A61K51/12 (2006.01)

(71)申請人：行政院原子能委員會核能研究所 (中華民國) INSTITUTE OF NUCLEAR ENERGY
RESEARCH ATOMIC ENERGY COUNCIL, EXECUTIVE YUAN (TW)

桃園縣龍潭鄉文化路 1000 號

(72)發明人：劉公典 LIU, KUNG TIEN (TW)；趙明煜 CHAO, MING YU (TW)；夏儀芝 HSIA,
YI CHIH (TW)；葉士緯 YEH, SHIH WOEI (TW)；廖美秀 LIAO, MEI HSIU
(TW)；門立中 MEN, LEE CHUNG (TW)；沈立漢 SHEN, LIE HANG (TW)

(74)代理人：林坤成；謝金原

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：8 項 圖式數：1 共 31 頁

(54)名稱

一種測定對鎔 (Tc-99m) 與銻 (Re-186、Re-188) 具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術

A DIRECT SOLID SAMPLE ANALYTICAL TECHNOLOGY FOR THE DETERMINATION OF
CHELATING LIGANDS CONTAIN SULFUR AND THEIR UNIFORMITY IN COLD KIT WHICH ARE
UTILIZED TO FORM STABLE COMPLEXES WITH RADIOTECHNETIUM (TC-99M) AND
RADIORHENIUM (RE-186, RE-188)

(57)摘要

一種測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術，本技術使用元素分析儀結合紅外線偵測器、熱導偵測器或質譜儀，直接分析固態凍晶樣品，並利用價格低廉、穩定性高、容易取得之煤標準品作為對照物質來製作硫的校正曲線，將偵測結果內插到由煤對照物質製作之校正曲線，可以得到固態凍晶劑樣品中的硫含量。再進一步以重量含量百分比換算得知凍晶劑中螯合劑含量與均一性，以確保關鍵製程與臨床使用時，含硫螯合劑活性成分在凍晶劑中的藥品品質。

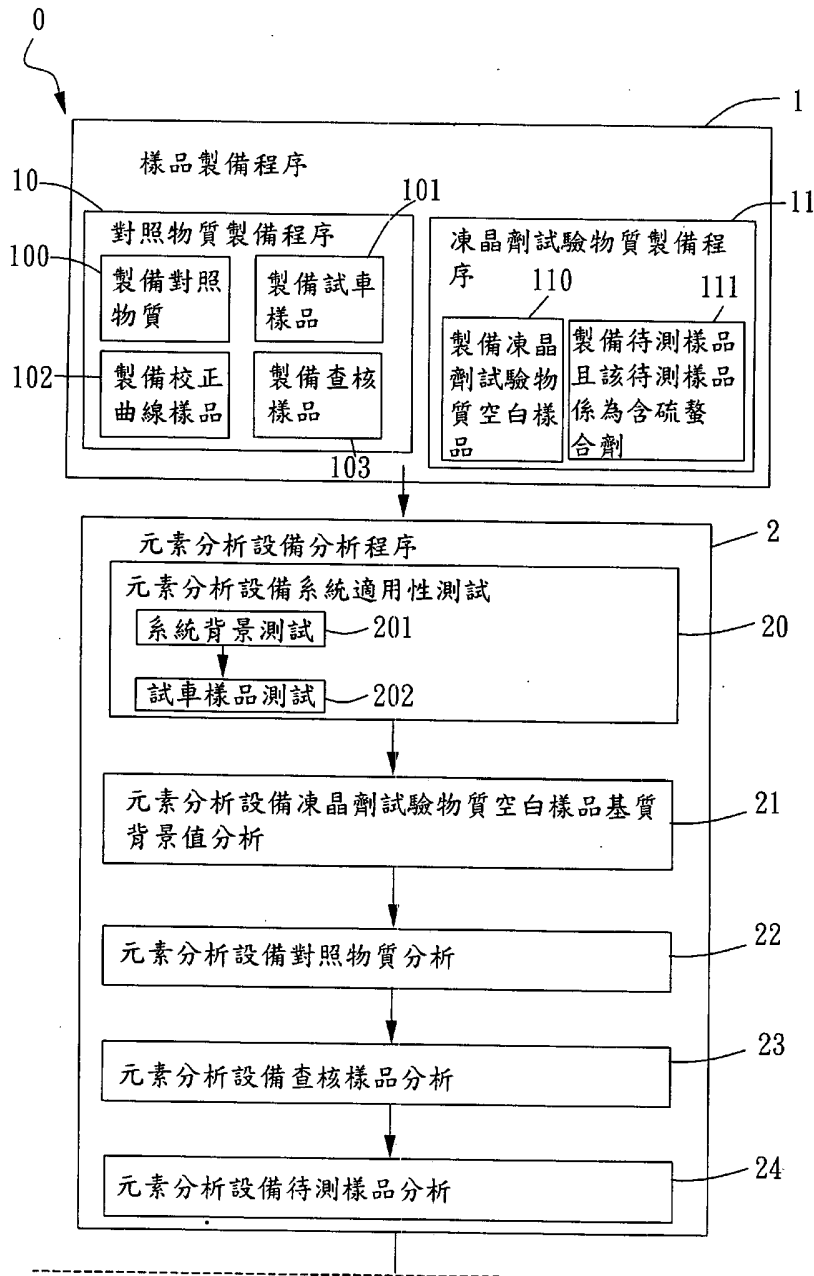


圖 一 A

0：含硫螯合劑在凍晶劑中的含量與均一性固態樣品分析技術

1：樣品製備程序

2：元素分析設備分析程序

3：對照物質與查核樣品之硫含量計算

4：待測樣品之硫含量計算與含硫螯合劑含量換算

10：對照物質製備程序

11：凍晶劑試驗物質製備程序

20：元素分析設備系統適用性測試

21：元素分析設備凍晶劑試驗物質空白樣品基質背景值分析

22：元素分析設備對照物質分析

23：元素分析設備查核樣品分析

24：元素分析設備待測樣品分析

30：計算對照物質之線性迴歸公式及相關係數

31：計算查核樣品之準確度與回收率

40：計算試驗物質中硫含量

41：計算試驗物質中螯合劑含量

100：製備對照物質

101：製備試車樣品

102：製備校正曲線樣品

103：製備查核樣品

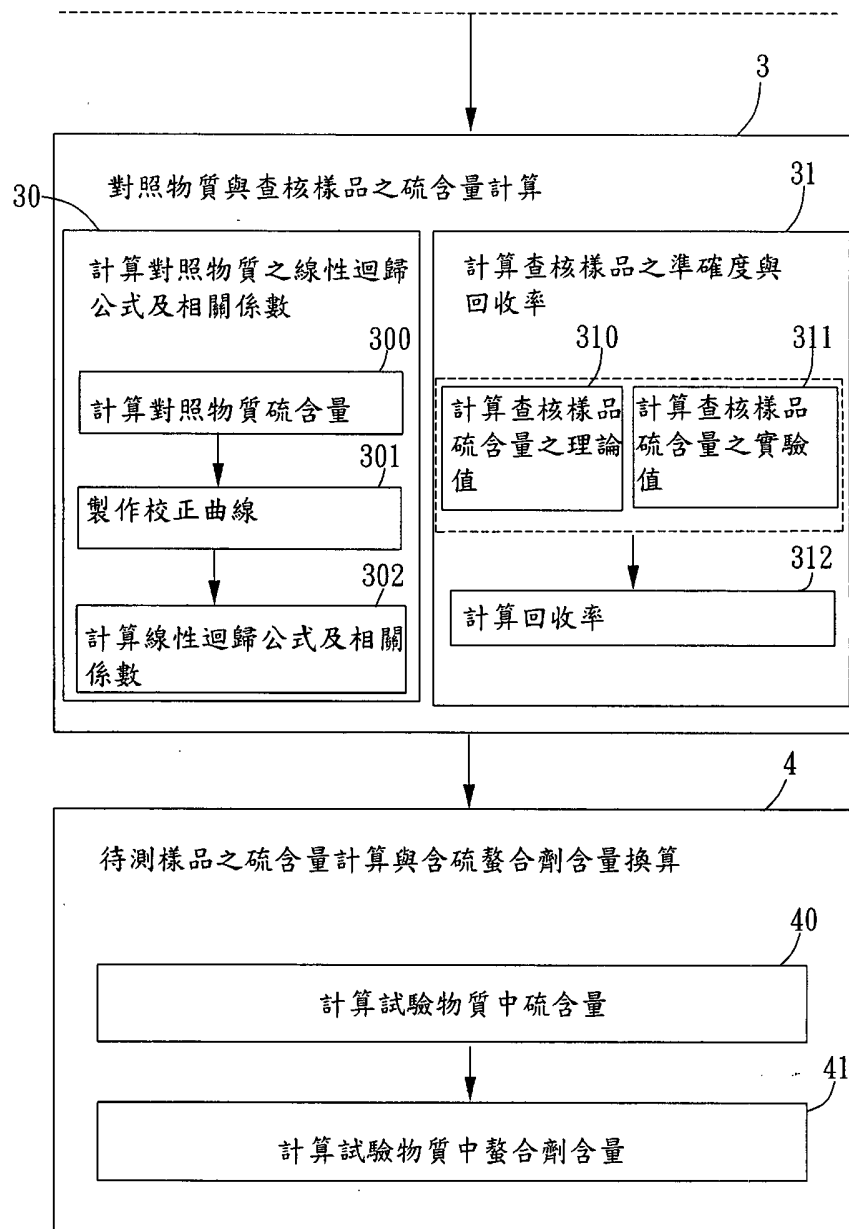


圖 一 B

110：製備凍晶劑試驗物質空白樣品

111：製備待測樣品且該待測樣品係為含硫螯合劑

201：系統背景測試

202：試車樣品測試

300：計算對照物質硫含量

301：製作校正曲線

302：計算線性迴歸公式及相關係數

310：計算查核樣品硫含量之理論值

311：計算查核樣品硫含量之實驗值

312：計算回收率

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關一種螯合劑含量的固態樣品檢測方法，尤其是指測定對鎝(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術。

【先前技術】

含硫螯合劑是廣泛使用於螯合鎝(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)的軟性螯合劑，可以和鎝與銻生成穩定之錯合物。目前，鎝與銻之含硫核醫藥物包含有：鎝-99m-雙肼乙酯(癲癇診斷藥物，Tc-99m-ECD)、馬格鎝(腎功能診斷藥物，Tc-99m-MAG3 mercaptoacetyl triglycine)、鎝-99m-雙硫醇琥珀酸(腎臟皮質與肺功能診斷藥物，Tc-99m-DMSA dimercaptosuccinic acid)、鎝-99m-諾特(心臟診斷藥物，Tc-99m-N-NOET)、鎝-99m-雙乙氧基乙基雙硫胺甲酸酯(心臟診斷藥物，Tc-99m-N-DBODC)、莨菪烷衍生物(作為多巴胺轉運體造影劑，Tropane derivative)、銻-188-雙肼乙酯/利比多(肝癌治療藥物，Re-188 ECD/Lipiodol)、以及乙二半肼氨酸-藥物鍵結物(可與不同螯合劑及 Tc-99m 結合作為疾病造影劑，Ethylenedicysteine)等。一般可與鎝及銻錯合的含硫螯合劑種類請參閱表一。

表一、常用與鎝及銻形成錯合物的含硫螯合劑種類

鎝與銻之配位核心	螯合劑	螯合結構
----------	-----	------

酮基鎔與酮基銻之 五、六配位錯合物 (Penta- and Hexacoordinated complexes of oxo-Tc or oxo-Re)($[M=O]^{3+}$)	硫醇(Thiolates)	S
	胺基硫醇(Aminothiols)	$\begin{array}{c} \text{S} \quad \text{N} \\ \text{---} \end{array}$
	雙硫醇(Dithiols 或 dithioxalates)	$\begin{array}{c} \text{S} \quad \text{S} \\ \text{---} \end{array}$
	三配位雙硫醇(Tridentate dithiols)	$\begin{array}{c} \text{S} \quad \text{S} \quad \text{S} \\ \text{---} \end{array},$ $\begin{array}{c} \text{S} \quad \text{O} \quad \text{S} \\ \text{---} \end{array},$ $\begin{array}{c} \text{S} \quad \text{N} \quad \text{S} \\ \text{---} \end{array}$
	三配位席夫鹼(Tridentate Schiff bases)	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{N} \quad \text{S} \\ \text{---} \end{array}$
	二氨基二硫基 (Diaminedithiols)	$\begin{array}{c} \text{S} \quad \text{N} \quad \text{N} \quad \text{S} \\ \text{---} \end{array}$
	硫醇乙醯胺 (Mercaptoacetamides)	$\begin{array}{c} \text{S} \quad \text{N} \quad \text{N} \quad \text{S}-\text{R} \\ \text{---} \end{array}$
	馬格衍生物(MAG3 derivatives)	$\begin{array}{c} \text{S} \quad \text{N} \quad \text{N} \quad \text{N} \\ \text{---} \end{array}$
	硫烷基-雙硫-硫 (Thioalkyl-dithiol-thio)	$\begin{array}{c} \text{S} \quad \text{S} \quad \text{S} \quad \text{S}-\text{R} \\ \text{---} \end{array}$
氮基鎔與氮基銻之 五、六配位錯合物 (Penta- and Hexacoordinated complexes of nitrido-Tc or	硫脲素(Thiourea)	S
	二硫代胺基甲酸鹽 (Dithiocarbamate)	$\begin{array}{c} \text{S} \quad \text{S} \\ \text{---} \end{array}$
	偶氮次甲基(Azomethines)	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{N} \quad \text{S} \\ \text{---} \end{array}$
	二氨基二硫基	$\begin{array}{c} \text{S} \quad \text{N} \quad \text{N} \quad \text{S} \\ \text{---} \end{array}$

nitrido-Re $)([M\equiv N]$ $^{2+})$	(Diaminedithiols)	
	異硫氰酸酯 (Isothiocyanate)	$RN=C=S$

臨床使用時，通常會將凍晶劑(cold kit，含有螯合劑與還原劑)溶解在緩衝溶液中，再與鎳或鋅混合進行螯合反應(又稱為錯合反應或放射性標誌反應)，生成錯合物後，才進行病人之靜脈注射(intravenous injection)。

傳統上，量測凍晶劑中含硫螯合劑含量的大部分方法，是先將樣品溶解後，再進行滴定或儀器分析。第一種習知用於液態樣品中測量硫之方式為艾氏卡測定方法(Eschka method)。該法為 ISO 與 ASTM 採用之總硫(有機硫、無機硫、元素硫)含量的標準方法，但其化學前處理程序複雜，而且主要是應用於煤、石油焦、焦炭中的總硫含量測定，不適用於有機含硫螯合劑分析。第二種習知用於液態樣品中測量硫之方式，為使用感應耦合電漿原子發射光譜法(inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, ICP-AES)與電位法來分析硫含量。其缺點是僅能分析液態樣品，因此分析前必須經過繁複的化學前處理程序，包含分解、溶解、純化等步驟。處理時可能造成樣品流失與污染等問題，由於部分含硫螯合劑凍晶劑(如 ECD Vail A)溶解後，可能迅速降解。因此，將樣品溶解後再利用儀器，如高效能液相層析法(HPLC)或質譜儀分析並不適合於此類樣品之分析。另外，硫含量之分析方式亦與硫的化學形態有關，例如第三種習知用於液態樣品中測量硫之方式，是 Canfield et al. 研究利用 chromium 還原法

來分析沈積物與頁岩、泥板岩中的無機硫，包括黃鐵礦、元素硫與揮發態單硫化物，但該還原法不會還原有機硫與硫酸鹽，而只能對還原無機硫具有較高的專一性，故無法完全測定有機化合物中的真實硫含量。

由上述可知分析液體樣品之缺點，故若能直接分析固態樣品，可以避免樣品溶解時分析物流失的狀況。此外，由於樣品未被稀釋，可以提高分析的靈敏度，並只需要較少的樣品數量，也不需要使用腐蝕性與危險性試劑，可以節省經費及保護環境，分析的速度也較快。但直接分析固態樣品亦有其缺點，包括樣品不易操作，特別是將樣品導入儀器的過程；不易進行標準品校正，因為分析物氣化與原子化之過程，與分析物在固態樣品中的形態及基質有關；精密度較不理想，如石墨式原子吸收光譜法(SS-GFAAS)與電熱式揮發感應偶合電漿質譜儀(SS-ETV-ICP-MS)分析固態樣品的相對標準偏差範圍是 5~25%；直接分析固態樣品時也會將其它基質一起導入儀器，可能會引發其它問題；此外，直接分析固態樣品之相對標準偏差在 10~20%是很常見的。

第一種習知用於固態樣品中測量硫之方式為 Nečemer et al. 利用「X-ray 螢光光譜分析法」直接分析飼料固態粉末的硫含量；但是因為 X-ray 螢光光譜分析法無法得到基線分離的圖譜解析度，因此 Nečemer et al. 有自行發展的定量分析軟體。此外綜合標準不確定度及準確度分別是 12%與 2~10%，而主要誤差來源為固態樣品的取樣均勻性。

第二種習知用於固態樣品中測量硫之方式為 Nečemer

et al. 利用「中子活化分析(instrumental neutron activation analysis, INAA)」分析固態飼料粉末的硫含量。但是利用 INAA 技術，必須具備相關中子照射與輻射防護設施，而且偵測下限為 3000-5000 毫克/公斤，並不理想。

第三種習知用於固態樣品中測量硫之方式為使用元素分析儀來分析固態樣品。例如，Sieper et al. 發展利用「元素分析儀結合同位素比值質譜儀(elemental analyzer coupled to an isotope ratio mass spectrometer)」，在 20 分鐘內完成同步分析一個樣品中氫、碳、硫與氮元素之同位素比值的技術；以及 Duz et al. 利用 Carlo Erba 元素分析儀分析煤樣品的氫、碳、硫與氮元素。雖然使用元素分析儀來分析固態樣品已廣為製藥界所熟知及使用於單獨藥物之元素含量分析，但目前尚未有人使用本技術來直接分析對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在固態凍晶劑樣品中之含量與均一性。

綜合上述，亟需一種容易操作、精密度高且可應用於測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中含量之固態樣品直接分析技術，以解決習用技術所產生之問題。

【發明內容】

測定螯合劑活性成分在凍晶劑中的含量與其均一性，是藥物量產製程中維持化學、製造與管制品質的重要試驗項目。本發明之主要目的，在於提供一種固態樣品直接分

析技術，以測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中的含量與其均一性，以確保凍晶劑在量產製程中的藥品品質。

在一實施例中，本發明提供一種容易操作並且精密度高，可以測定含硫螯合劑活性成分在凍晶劑中之含量與其均一性的固態樣品分析技術，其係包括下列步驟：樣品製備程序，其係包括對照物質製備程序，以及凍晶劑試驗物質製備程序，其中，該對照物質製備程序包含製備對照物質、製備試車樣品、製備校正曲線樣品以及製備查核樣品，該凍晶劑試驗物質製備程序包含製備凍晶劑試驗物質空白樣品以及製備待測樣品且該待測樣品係為含硫螯合劑；元素分析設備分析程序，其係包括元素分析設備系統適用性測試，元素分析設備凍晶劑試驗物質空白樣品基質背景值分析，元素分析設備對照物質分析，元素分析設備查核樣品分析，以及元素分析設備待測樣品分析，其中，該元素分析設備系統適用性測試包含系統背景測試與試車樣品測試；對照物質與查核樣品之硫含量計算，其係包括計算對照物質之線性迴歸公式及相關係數以及計算查核樣品之準確度與回收率，其中，該計算對照物質之線性迴歸公式及相關係數，係包含計算對照物質硫含量、製作校正曲線以及計算線性迴歸公式及相關係數，該計算查核樣品之準確度與回收率，係包含計算查核樣品硫含量之理論值、計算查核樣品硫含量之實驗值以及計算回收率；待測樣品之硫含量計算與含硫螯合劑含量換算，其係包括計算試驗物質中硫含量以及計算試驗物質中螯合劑含量。

【實施方式】

為使 貴審查委員能對本發明之特徵、目的及功能有更進一步的認知與瞭解，下文特將本發明之系統的相關細部結構以及設計的理念原由進行說明，以使得 審查委員可以了解本發明之特點，詳細說明陳述如下：

本發明提供一種測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中含量與其均一性的固態樣品分析技術，由於螯合劑是凍晶劑配方中唯一含有硫的成分，因此本發明希望直接分析凍晶劑配方固態樣品中的硫含量後，換算為螯合劑含量，以此方式可不需要將樣品溶解成溶液後分析，避免凍晶劑固態樣品溶解後可能導致的不穩定及降解問題。

本發明中所說的含硫螯合劑係包含對鎔與銻具有穩定錯合力，可以與鎔(Tc-99m)或銻(Re-186、Re-188)螯合後應用於疾病診斷或治療的放射性核醫藥物的含硫螯合劑前驅物(即活性成分，active pharmaceutical ingredient，簡稱 API)。而含硫螯合劑之凍晶劑，則是指將含硫螯合劑預先與還原劑(如 SnCl_2)等試劑混合冷凍乾燥而成，便於量產、運送及臨床應用的試藥。

本發明中測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中含量與其均一性的固態樣品分析技術為利用元素分析儀之技術。雖元素分析儀之技術已經十分成熟而且普遍應用於純化合物之化學組成分析，但此一技術未曾應用於凍晶劑配方中之含硫螯合

劑含量與均一性的一般性固態樣品分析上，特別是對於鎢與銻等具有軟性穩定錯合能力之含硫螯合劑分析。本發明可使用元素分析儀(EA)結合紅外線偵檢器(non-dispersive infrared (NDIR) detector)、元素分析儀(EA)結合熱感偵檢器(thermal conductivity detector)或是元素分析儀(EA)結合同位素比值質譜儀(isotope ratio mass spectrometer)來作為分析工具。

由於不易取得含硫螯合劑凍晶劑來製作校正曲線，因此本發明改以對照物質製作校正曲線，其中對照物質為含硫之化合物或含硫之混合物，該含硫之化合物包含磺胺酸(Sulfanilic acid, 4-aminobenzene sulfonic acid)，但不以此為限，該含硫之混合物包含煤，但不以此為限，本實施例使用煤來當作對照物質，本實施例之煤對照物質型號為 ELTRA coal standard #92510-50，其組成包含 76.6% 的碳與 3.07% 的硫，該煤對照物質之製造商與產地為 ELTRA, Neuss, Germany。使用煤作為對照物質的優點是：容易取得、具有硫含量的標準值、價格便宜、以及穩定性好，易於保存，並且經實驗後可得知煤無基質干擾的問題，請參閱表二，其係為煤之基質效應測試，本實施例中直接測量煤中的硫含量與將煤放入無螯合劑之凍晶劑中測量其硫含量，根據表二之測試結果，煤不受基質干擾。

表二 煤之基質效應測試

樣品	煤對照物質之標準曲線			波峰面積
	硫含量 (毫克)	線性回歸公式	相關係數(r)	

煤	0.033~ 0.142	$Y = 1.565 \times 10^{-6}X$ $+ 3.174 \times 10^{-3}$	1.0000	248 ± 11
煤放入無 螯合劑之 凍晶劑中	0.036~ 0.132	$Y = 1.547 \times 10^{-6}X$ $+ 8.932 \times 10^{-3}$	0.9998	$2438 \pm$ 642

而煤對照物質之樣品前處理程序，係依據 ASTM 方法 D-3173, 2002 修改而來；另外，元素分析儀分析部份含硫螯合劑之儀器參數，係依據 Sieper et al. 發展利用元素分析儀結合同位素比值質譜儀同步分析氫、碳、硫與氮元素的方法修改而來。

本實施例以雙肱乙酯腦造影劑 A 瓶凍晶注射劑主成分 ECD · 2HCl 含量分析為例，但不以此為限。本實施例之儀器為紅外線元素分析儀(Elemental Analyzer Coupled with a Non-Dispersive Infrared [NDIR] Detector，簡稱 IR-EA) (型號為 vario EL cube, 製造商與產地為 Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, Germany)，但不以此儀器為限，該儀器之參數請參閱表三所示，表三其係為使用紅外線元素分析儀分析 ECD · 2HCl 之硫含量之最佳化參數，若使用不同儀器時，則需視該儀器來調整其參數。

表三 使用紅外線元素分析儀分析 ECD · 2HCl 之硫含量之最佳化參數

分析模式	CHNS
燃燒管溫度(°C)	1150
還原管溫度(°C)	900

注入氣體/時間(秒)	氮/10
氧氣注入時間(秒)	120
二氧化碳之等待溫度(°C)	環境溫度
水之等待溫度(°C)	環境溫度
二氧化硫之等待溫度(°C)	140
二氧化碳之去吸附溫度(°C)	240
水之去吸附溫度(°C)	150
二氧化硫之去吸附溫度(°C)	220
載氣/流率(毫升/分鐘)	氮/230
氧氣流率(毫升/分鐘)	15
燃燒過程中氧氣之流率(毫升/分鐘)	30-35

請參閱圖一 A 與圖一 B，其係為本發明測定對銨 (Tc-99m) 與銻 (Re-186、Re-188) 具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術示意圖。該含硫螯合劑凍晶劑中螯合劑含量與其均一性的固態樣品分析技術 0，其係包含：樣品製備程序 1；元素分析設備分析程序 2；對照物質與查核樣品之硫含量計算 3；待測樣品之硫含量計算與含硫螯合劑含量換算 4。

首先樣品製備程序 1，其係包含對照物質製備程序 10 與凍晶劑試驗物質製備程序 11。步驟 10 可早於或是晚於步驟 11。

對照物質製備程序 10 中包含步驟 100 係為製備對照物質 (Coal Standards)。本實施例中，取大約 0.5 克的煤對照物質，以瑪瑙研鉢研磨約 1~2 分鐘後，放入烘箱在 107°

C 溫度下烘乾約 90~120 分鐘。然後將對照物質取出，置於乾燥箱中冷卻至室溫備用。步驟 101 係為製備試車樣品 (Run-in Samples)。精秤 2 ± 0.2 毫克上述煤對照物質為試車樣品。以元素分析儀專用錫盒(以下簡稱：EA 錫盒)包覆後進行分析，以測試及確認系統適用性 (System Suitability)。步驟 102 係為製備校正曲線樣品 (Calibration Curve Standards)。精秤 5 個在 1~3.5 毫克範圍內的上述煤對照物質樣品，以 EA 錫盒包覆。步驟 103 係為製備查核樣品 (QC Samples)。精秤 2 ± 0.2 毫克上述煤對照物質為查核樣品，以 EA 錫盒包覆。查核樣品數目至少為每批次待測樣品總數之 20%，最少 3 個且為 3 之倍數。步驟 100~步驟 103 的順序可視操作者而變。

凍晶劑試驗物質製備程序 11 係包含步驟 110 係為製備凍晶劑試驗物質空白樣品 (Kit Blanks)。取適量不含螯合劑之凍晶劑試驗物質空白樣品 (Kit Blanks)，以瑪瑙研鉢研磨約 40 秒。精秤 2 個空白樣品約 7.5 毫克，以 EA 錫盒包覆。步驟 111 係為製備待測樣品且該待測樣品係為含硫螯合劑，本實施例之待測樣品為 ECD Vail A，取待測樣品於瑪瑙研鉢研磨約 40 秒。精秤約 7.5 毫克樣品，以 EA 錫盒包覆。

接著進行步驟 2 元素分析設備分析程序，其係包含步驟 20 係為元素分析設備系統適用性測試；步驟 21 係為元素分析設備凍晶劑試驗物質空白樣品基質背景值分析；步驟 22 係為元素分析設備對照物質分析；步驟 23 係為元素分析設備查核樣品分析；步驟 24 係為元素分析設備待測樣

品分析。

步驟 20 係為元素分析設備系統適用性測試，每次進行分析試驗，須先完成系統適用性(System Suitability)測試，合乎可接受標準後才能進行對照物質及試驗物質分析。系統適用性測試係包含步驟 201 係為系統背景測試與步驟 202 係為試車樣品(Run-in Samples)測試。步驟 201 係為系統背景測試，本實施例中，至少分析 6 個不含任何樣品的空白錫盒，直到背景值穩定後，最後取複數個空白錫盒分析背景值，計算硫元素平均背景積分面積，系統背景可接受標準為複數個空白錫盒之硫分析背景值(積分面積)小於 5000 計數(counts)，本實施例中最後是取 3 個空白錫盒樣品來計算硫元素平均背景積分面積。步驟 202 係為試車樣品測試，本實施例中，分析 8~12 個煤試車樣品之硫含量，確認儀器再現性。最後取複數個煤試車樣品來分析結果，計算硫含量百分比之相對標準偏差(RSD)。本實施例中，最後取複數個煤試車樣品的個數為 4 個，本實施例之試車樣品之再現性可接受標準為 4 個煤試車樣品之分析結果之 $RSD \leq 5\%$ 。

步驟 21 係為元素分析設備凍晶劑試驗物質空白樣品基質背景值分析，取上述處理過之不含螯合劑之凍晶劑試驗物質空白樣品，隨機放在分析批次中不同位置進行硫含量測定。計算硫含量平均積分面積。

步驟 22 係為元素分析設備對照物質分析，取上述處理過之 5 個在 1~3.5 毫克範圍內的煤對照物質，重量由低至高排列，依序進行硫含量測定。將硫含量分析面積扣除系

統背景值(平均背景積分面積)後，以煤對照物質對應於硫含量分析面積，製作線性迴歸校正曲線及計算線性關係。

步驟 23 係為元素分析設備查核樣品分析，取上述處理過之查核樣品，隨機放在分析批次中不同位置進行硫含量測定。將硫含量分析面積扣除系統背景值(平均背景積分面積)後，以內插法計算對應於校正曲線之硫含量。

步驟 24 係為元素分析設備待測樣品分析，取上述處理過之待測樣品，隨機放在分析批次中不同位置進行硫含量測定。將硫含量分析面積扣除空白樣品基質之硫平均積分面積後，以內差法計算對應於校正曲線之硫含量。

接著進行步驟 3 對照物質與查核樣品之硫含量計算，其係包含步驟 30 計算對照物質之線性迴歸公式及相關係數(r)；步驟 31 計算查核樣品之準確度(Accuracy)與回收率(Recovery Yield)，步驟 30 可進行在步驟 31 之前或之後。步驟 30 係為計算對照物質之線性迴歸公式及相關係數(r)，其係包含步驟 300 計算對照物質硫含量，對照物質硫含量(毫克) = 樣品重量(毫克) × 樣品硫含量百分比(%)；步驟 301 係為製作校正曲線，以對照物質硫含量(毫克)對應於硫積分面積(扣除系統背景平均積分面積)，製作校正曲線，本實施例中，對照物質係為煤對照物質；步驟 302 係為計算線性迴歸公式及相關係數(r)，線性迴歸公式為硫含量 = 斜率 × 硫積分面積 + 截距，其中，線性可接受標準為線性相關係數平方(r^2) ≥ 0.995 。

步驟 31 係為計算查核樣品之準確度(Accuracy)與回收率(Recovery Yield)。準確度是以回收率表示實驗結果

與理論值的接近程度。利用查核(QC)樣品硫含量百分比計算硫含量實驗值，再計算硫含量實驗值與硫含量理論值之比值。一般來說，查核樣品之回收率須大於 66.7%，此批測試才算準確，本實驗之查核樣品之回收率範圍則在 95~105%內。步驟 310 為計算查核樣品硫含量理論值，查核樣品硫含量理論值 = 查核樣品重量(毫克) × 查核樣品之硫含量百分比理論值(%)；步驟 311 為計算查核樣品硫含量實驗值，查核樣品硫含量實驗值 = 查核樣品重量(毫克) × 查核樣品之硫含量百分比實驗值(%)，步驟 310 可進行在步驟 311 之前或之後；步驟 312 為計算回收率，回收率(%) = 查核樣品硫含量實驗值(毫克) / 查核樣品之硫含量理論值(毫克) × 100%。表四為煤對照物質之標準曲線與查核樣品之精密度與準確度測試結果，由表四可知待測樣品之測試結果的相關係數為 0.9989~0.9994，查核樣品之相對標準偏差為 0.6%~2.25%，上述實驗結果表示該技術檢測有良好之精密度與準確度。

表四 煤對照物質之標準曲線與查核樣品之精密度與準確度測試結果

煤對照物質之標準曲線			查核樣品之硫重量 (%)	查核樣品之回 收率(%)
硫重量 (毫克)	線性迴歸公式	相關係數	(相對標準偏差%)	
0.033~ 0.104	$Y = 1.615 \times 10^{-6}X + 4.747 \times 10^{-3}$	0.9993	3.13 ± 0.07 (2.25%)	102.08 ± 2.29
0.031~	$Y = 1.623 \times$	0.9989	3.10 ± 0.02	$100.89 \pm$

0.105	$10^{-6}X + 1.741 \times 10^{-3}$		(0.60%)	0.60
0.034~ 0.107	$Y = 1.634 \times 10^{-6}X + 1.034 \times 10^{-3}$	0.9994	3.08 ± 0.04 (1.21%)	100.15 ± 1.21

待測樣品之硫含量計算與含硫螯合劑含量換算 4，其係包含步驟 40 計算試驗物質中硫含量與步驟 41 計算試驗物質中螯合劑含量。步驟 40 為計算試驗物質中硫含量，試驗物質中硫含量(毫克) = 試驗物質總重量(毫克) × 試驗物質之硫含量百分比實驗值(%)；步驟 41 為計算試驗物質中螯合劑含量，螯合劑含量之計算公式如下：螯合劑含量(毫克) = (試驗物質中硫含量(毫克) × 螯合劑分子量(克/莫耳)) / (螯合劑中硫的個數 × 硫原子量(克/莫耳))。本實施例之螯合劑為 ECD · 2HCl，由上述公式，本實施例之 ECD · 2HCl 含量之計算方式如下，ECD · 2HCl (毫克) = (試驗物質中硫含量(毫克) × ECD · 2HCl 分子量(克/莫耳)) / (2 × 硫原子量(克/莫耳))。表五為使用紅外線元素分析儀測量 ECD · 2HCl 含量之分析結果，由表五可知，煤對照物質標準校正曲線之相關係數皆在 0.9994~0.9998 之間，查核樣品回收率在 99.52~106.62 間，顯示此測定鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)之含硫螯合劑凍晶劑中螯合劑含量與其均一性的固態樣品分析技術可準確的測量 ECD · 2HCl 之重量。

表五 使用紅外線元素分析儀測量 ECD · 2HCl 含量之分析結果

實驗	煤對照物質之標準曲線			查核樣品之回收率 (%)	ECD·2HC1 重量(毫克)
	硫重量 (毫克)	線性迴歸公式	相關係數		
1	1.025~3.327	$Y = 1.624 \times 10^{-6}X + 1.600 \times 10^{-3}$	0.9995	101.26	0.934 ± 0.021
2	1.058~3.403	$Y = 1.582 \times 10^{-6}X + 1.791 \times 10^{-3}$	0.9994	100.81~ 101.94	0.952 ± 0.013
3	1.033~3.376	$Y = 1.629 \times 10^{-6}X + 7.410 \times 10^{-4}$	0.9998	99.52~ 106.62	0.984 ± 0.007

另外，在測定鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)之含硫螯合劑凍晶劑中螯合劑含量與其均一性的固態樣品分析技術中，可調動實驗參數來找出實驗參數之範圍區間，表六為改變參數之耐受性(Robustness)測試，由表六可知當氧氣注入時間在 90~150 秒；燃燒管溫度在 1120~1180 度；還原管溫度在 850~950 度之間時煤對照物質之標準曲線之相關係數皆高於 0.9990，查核樣品之回收率在 97~104.94% 之間。

表六 改變參數之耐受性(Robustness)測試

實驗參數		煤對照物質之標準曲線		查核樣品	
		線性迴歸公式	相關係數	硫重量(%)	回收率(%)
氧氣注入 時間(秒)	90	$Y = 1.544 \times 10^{-6}X + 3.394 \times 10^{-3}$	0.9992	3.14 ± 0.06	102.36 ± 2.58
	120	$Y = 1.615 \times 10^{-6}X + 4.747 \times 10^{-3}$	0.9993	3.13 ± 0.07	101.91 ± 2.30

	150	$Y = 1.604 \times 10^{-6}X + 7.508 \times 10^{-4}$	0.9999	3.05 ± 0.10	99.17 ± 2.84
燃燒管溫度 (°C)	1120	$Y = 1.605 \times 10^{-6}X + 8.215 \times 10^{-4}$	0.9997	3.13 ± 0.06	102.01 ± 1.85
	1150	$Y = 1.615 \times 10^{-6}X + 4.747 \times 10^{-3}$	0.9993	3.13 ± 0.07	101.91 ± 2.30
	1180	$Y = 1.586 \times 10^{-6}X + 1.126 \times 10^{-3}$	0.9985	3.03 ± 0.03	98.68 ± 1.14
還原管溫度 (°C)	850	$Y = 1.621 \times 10^{-6}X + 9.226 \times 10^{-5}$	0.9997	3.12 ± 0.06	102.01 ± 1.75
	900	$Y = 1.615 \times 10^{-6}X + 4.747 \times 10^{-3}$	0.9993	3.13 ± 0.07	101.91 ± 2.30
	950	$Y = 1.649 \times 10^{-6}X - 1.288 \times 10^{-3}$	0.9996	3.00 ± 0.02	97.97 ± 0.87

本發明所提供之一種測定凍晶劑中含硫螯合劑之含量與其均一性的固態樣品分析技術，係使用元素分析儀搭配紅外線偵測器、熱導偵測器或是質譜儀，可準確有效分析固態凍晶劑樣品中含硫螯合劑之硫含量，並進一步利用重量百分比公式換算螯合劑含量。

唯以上所述者，僅為本發明之較佳實施例，當不能以之限制本發明範圍。即大凡依本發明申請專利範圍所做之均等變化及修飾，仍將不失本發明之要義所在，故都應視為本發明的進一步實施狀況。

【圖式簡單說明】

圖一 A~B 係為本發明測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術示意圖。

【主要元件符號說明】

0-含硫螯合劑在凍晶劑中的含量與均一性固態樣品分析技術

1-樣品製備程序

10-對照物質製備程序

100-製備對照物質

101-製備試車樣品

102-製備校正曲線樣品

103-製備查核樣品

11-凍晶劑試驗物質製備程序

110-製備凍晶劑試驗物質空白樣品

111-製備待測樣品且該待測樣品係為含硫螯合劑

2-元素分析設備分析程序

20-元素分析設備系統適用性測試

201-系統背景測試

202-試車樣品測試

21-元素分析設備凍晶劑試驗物質空白樣品基質背景值分析

22-元素分析設備對照物質分析

23-元素分析設備查核樣品分析

- 24-元素分析設備待測樣品分析
- 3-對照物質與查核樣品之硫含量計算
 - 30-計算對照物質之線性迴歸公式及相關係數
 - 300-計算對照物質硫含量
 - 301-製作校正曲線
 - 302-計算線性迴歸公式及相關係數
 - 31-計算查核樣品之準確度與回收率
 - 310-計算查核樣品硫含量之理論值
 - 311-計算查核樣品硫含量之實驗值
 - 312-計算回收率
- 4-待測樣品之硫含量計算與含硫螯合劑含量換算
 - 40-計算試驗物質中硫含量
 - 41-計算試驗物質中螯合劑含量

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：99/35930

G01T 1/61 (2006.01)

※申請日：2010.02.1

※IPC 分類：

A61k 5/12 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

一種測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術

A direct solid sample analytical technology for the determination of chelating ligands contain sulfur and their uniformity in cold kit which are utilized to form stable complexes with radiotechnetium (Tc-99m) and radiorhenium (Re-186, Re-188)

二、中文發明摘要：

一種測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術，本技術使用元素分析儀結合紅外線偵測器、熱導偵測器或質譜儀，直接分析固態凍晶樣品，並利用價格低廉、穩定性高、容易取得之煤標準品作為對照物質來製作硫的校正曲線，將偵測結果內插到由煤對照物質製作之校正曲線，可以得到固態凍晶劑樣品中的硫含量。再進一步以重量含量百分比換算得知凍晶劑中螯合劑含量與均一性，以確保關鍵製程與臨床使用時，含硫螯合劑活性成分在凍晶劑中的藥品品質。

三、英文發明摘要：

A direct solid sample analytical technology for determining the chelating ligands contain sulfur, i.e. active pharmaceutical ingredient (API) and their uniformity in cold kit which are utilized to form stable complexes with radiotechnetium (Tc-99m) and radiorhenium (Re-186, Re-188) is disclosed. The technology uses an elemental analyzer coupled with a non-dispersive infrared detector, a thermal conductivity detector or an isotope ratio mass spectrometer to analyze sulfur in the solid sample of cold kit. An economical, stable and commercial available reference material, i.e. coal, is employed to construct the calibration curve of sulfur. The amount of chelating ligands and their uniformity in cold kit is obtained by converting from the sulfur weight percentage in the whole kit, and is used for the quality control of API in key production processes and clinical applications.

七、申請專利範圍：

1. 一種測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術，其係包括有下列步驟：

樣品製備程序，其係包括對照物質製備程序，以及凍晶劑試驗物質製備程序，其中，該對照物質製備程序包含製備對照物質、製備試車樣品、製備校正曲線樣品以及製備查核樣品，該凍晶劑試驗物質製備程序包含製備凍晶劑試驗物質空白樣品以及製備待測樣品且該待測樣品係為含硫螯合劑；

元素分析設備分析程序，其係包括元素分析設備系統適用性測試，元素分析設備凍晶劑試驗物質空白樣品基質背景值分析，元素分析設備對照物質分析，元素分析設備查核樣品分析，以及元素分析設備待測樣品分析，其中，該元素分析設備系統適用性測試包含系統背景測試與試車樣品測試；

對照物質與查核樣品之硫含量計算，其係包括計算對照物質之線性迴歸公式及相關係數以及計算查核樣品之準確度與回收率，其中，該計算對照物質之線性迴歸公式及相關係數，係包含計算對照物質硫含量、製作校正曲線以及計算線性迴歸公式及相關係數，該計算查核樣品之準確度與回收率，係包含計算查核樣品硫含量之理論值、計算查核樣品硫含量之實驗值以及計算回收率；

待測樣品之硫含量計算與含硫螯合劑含量換算，其係包括計算試驗物質中硫含量以及計算試驗物質中螯合劑含

量。

2. 根據申請專利範圍第 1 項所述之測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術，其中該元素分析設備為元素分析儀連接熱傳導偵檢器、元素分析儀連接紅外線偵檢器或元素分析儀連接質譜儀。

3. 根據申請專利範圍第 2 項所述之測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術，其中該元素分析儀連接質譜儀之質譜儀係可為同位素比值質譜儀、感應耦合電漿質譜儀、氣相層析質譜儀、液相層析質譜儀或串聯質譜儀。

4. 根據申請專利範圍第 1 項所述之測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術，其中該含硫螯合劑係為對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力且與鎔或銻螯合後應用於疾病診斷或治療的放射性核醫藥物的含硫螯合劑前驅物。

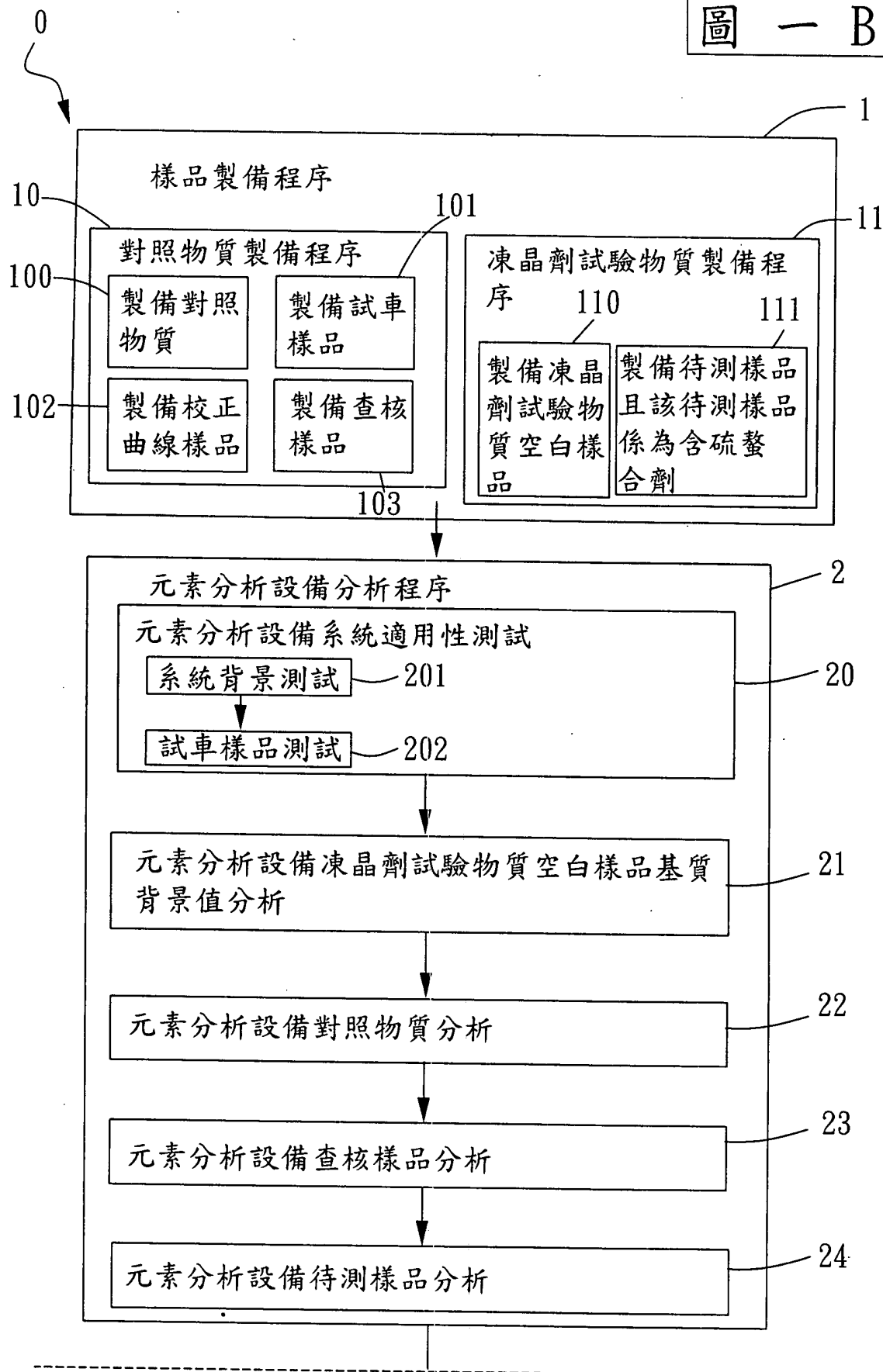
5. 根據申請專利範圍第 4 項所述之測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術，該含硫螯合劑更包含硫醇(Thiolates)、胺基硫醇(Aminothiols)、雙硫醇(Dithiols 或 dithioxalates)、三配位雙硫醇(Tridentate dithiols)、三配位席夫鹼(Tridentate Schiff bases)、二氨基二硫基(Diaminedithiols)、硫

醇乙醯胺(Mercaptoacetamides)、馬格衍生物(MAG3 derivatives)、硫烷基-雙硫-硫(Thioalkyl-dithiol-thio)、硫尿素(Thiourea)、二硫代胺基甲酸鹽(Dithiocarbamate)、偶氮次甲基(Azomethines)、二氨基二硫基(Diaminedithiols)、異硫氰酸酯(Isothiocyanate)。

6. 根據申請專利範圍第 1 項所述之測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術，其中該對照物質為含硫之化合物或含硫之混合物。

7. 根據申請專利範圍第 6 項所述之測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術，其中該含硫之化合物包含磺胺酸(Sulfanilic acid, 4-aminobenzene sulfonic acid)。

8. 根據申請專利範圍第 6 項所述之測定對鎔(Tc-99m)與銻(Re-186、Re-188)具有穩定錯合力之含硫螯合劑在凍晶劑中之含量與均一性的固態樣品分析技術，其中該含硫之混合物包含煤。



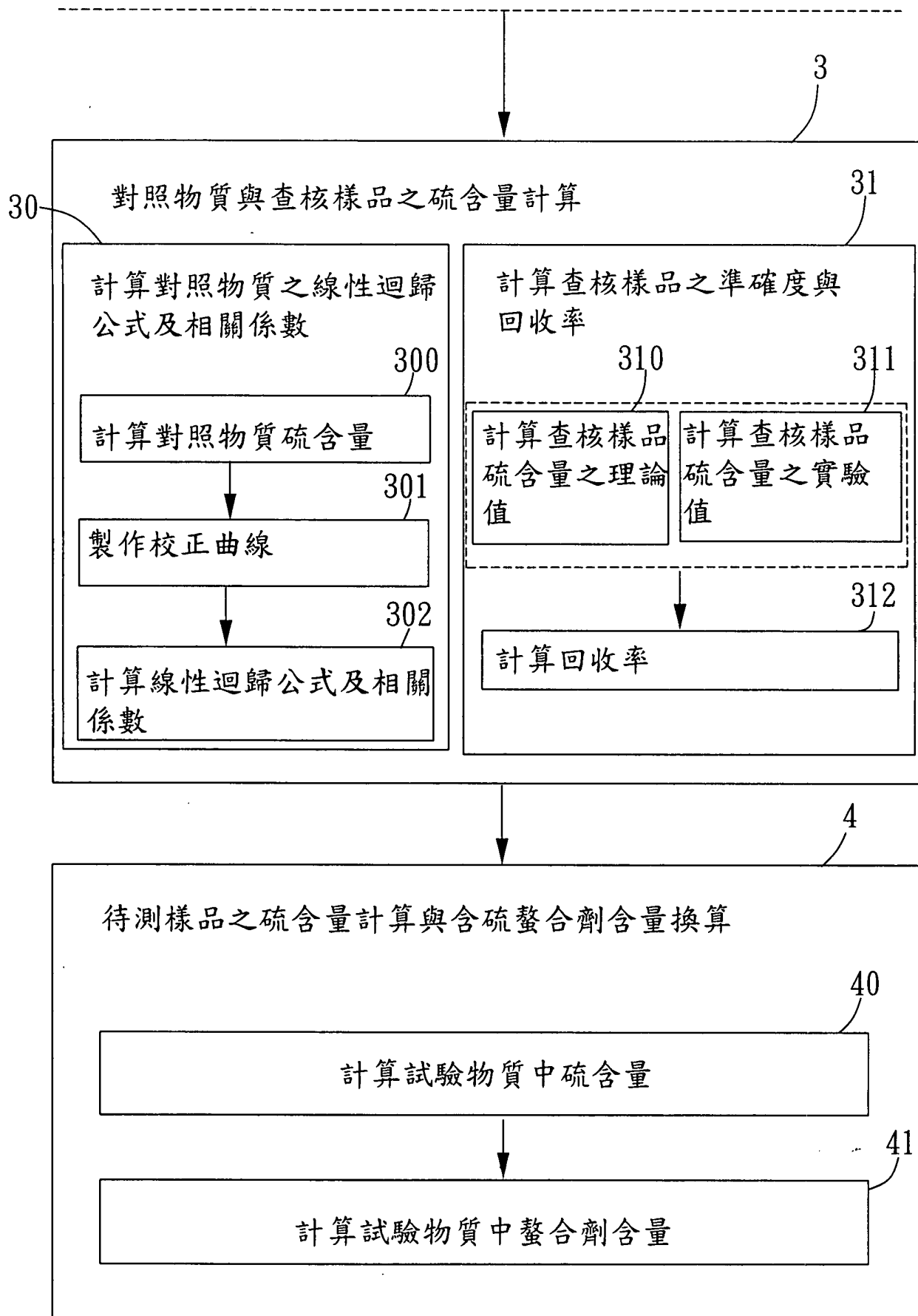


圖 一 B

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（一）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

0-含硫螯合劑在凍晶劑中的含量與均一性固態樣品分析技術

1-樣品製備程序

10-對照物質製備程序

100-製備對照物質

101-製備試車樣品

102-製備校正曲線樣品

103-製備查核樣品

11-凍晶劑試驗物質製備程序

110-製備凍晶劑試驗物質空白樣品

111-製備待測樣品且該待測樣品係為含硫螯合劑

2-元素分析設備分析程序

20-元素分析設備系統適用性測試

201-系統背景測試

202-試車樣品測試

21-元素分析設備凍晶劑試驗物質空白樣品基質背景值分析

22-元素分析設備對照物質分析

23-元素分析設備查核樣品分析

24-元素分析設備待測樣品分析

3-對照物質與查核樣品之硫含量計算

30-計算對照物質之線性迴歸公式及相關係數

300-計算對照物質硫含量

301-製作校正曲線

302-計算線性迴歸公式及相關係數

31-計算查核樣品之準確度與回收率

310-計算查核樣品硫含量之理論值

311-計算查核樣品硫含量之實驗值

312-計算回收率

4-待測樣品之硫含量計算與含硫螯合劑含量換算

40-計算試驗物質中硫含量

41-計算試驗物質中螯合劑含量

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無