

การศึกษาความคงตัวและสภาวะเหมาะสมในการติดฉลากสารประกอบสำเร็จรูป  
 $^{99m}\text{Tc}$ -Dimercaptosuccinic Acid ( $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA)

อังคนันท์ อังกูรรัตน์ สุนทรี เลหาหะวิไลย และทวีศักดิ์ ทันตวิวัฒน์  
 กองผลิตไอโซโทป สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ  
 โทรสาร 5795230 ต่อ 381 โทรสาร 561-3013.

บทคัดย่อ

สารประกอบติดฉลาก  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA ใช้สำหรับถ่ายภาพไต มีการกระจายตัวได้สูงสุดที่ renal cortex เหมาะสำหรับการใช้ศึกษา renal parenchyma การศึกษาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีเปรียบเทียบ 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 ใช้ ITLC-SA และ upper organic phase ของ n-butanol ที่อิ่มตัวด้วยกรดเกลือ 0.3 โมลาร์ (1:1) และวิธีที่ 2 คือ ใช้ ITLC-SG และ Methyl Ethyl Ketone (MEK), 5% glycine, 85% methanol ตามลำดับได้ผลการทดลองสอดคล้องกัน คือ ร้อยละของสารประกอบติดฉลากสูงสุดที่ชั่วโมงแรกของการติดฉลาก ใช้โซเดียมเปอร์เทคนิเกต (เทคนิเทียม-99 เอ็ม) มีความแรงรังสีได้สูงสุด คือ 150 มิลลิคูรี ปริมาตร 3 มิลลิลิตร สารประกอบสำเร็จรูป DMSA ชนิดผงแห้ง สามารถเก็บได้นาน 180 วัน

Stability Study and Optimization Conditions of  $^{99m}\text{Tc}$ -Dimercaptosuccinic  
Acid ( $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA)

Angkanan Aungurarat Soontree Laohawilai and Taweesak Tuntawiwattananont  
Isotope Production Division, Office of Atomic Energy for Peace (OAEP)  
Tel. 579-5230 Ext.381 Fax. 561-3013

Abstract

Technetium- $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA localized at high concentration in the renal cortex so it was excellent for imaging the renal parenchyma. The radiochemical purity was studied by two methods; 1) ITLC-SA developed with upper organic phase of n-butanol saturated with HCl 0.3 M (1:1) and 2) ITLC-SG developed with MEK, 5% glycine and 85% methanol respectively. The results were similar, the labelling yield of  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA complex was maximum at 1 hour and maximum activity and volume were 150 mCi and 3 ml respectively. The stability of lyophilized kit was about 180 days.

## 1. บทนำ

สารเภสัชภัณฑ์รังสีที่ใช้ศึกษาทางวิทยาศาสตร์และการทำงานของไต โดยวิธี renography มีหลายชนิด เช่น I-131 Hippuran ใช้ศึกษาความสามารถในการทำงานของไต (Dynamic Qualitative Indication of Renal Function) สารประกอบติดฉลากของปรอท ใช้ศึกษา renal parenchyma แต่ไม่นิยมใช้เนื่องจากสารไอโซโทปรังสี ปรอท-197 ให้รังสีแกมมาที่มีพลังงานสูงถึง 6277 keV เมื่อถ่ายภาพด้วย gamma camera จะให้รายละเอียดของภาพไม่ชัดเจน(1)

สารประกอบติดฉลากของเทคนิคเชียม-99 เก็ม ที่ใช้ถ่ายภาพไตมีหลายชนิด เช่น  $^{99m}\text{Tc}$  iron ascorbate,  $^{99m}\text{Tc}$ -GHA,  $^{99m}\text{Tc}$ -Sn-DTPA และ  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA ซึ่งแต่ละชนิดมีข้อดีข้อเสียต่างกัน เป็นต้นว่า  $^{99m}\text{Tc}$ -GHA และ iron ascorbate จะมีการกระจายตัวที่ไตไม่คั่งคั่งแต่ blood และ urinary clearance เร็วมาก  $^{99m}\text{Tc}$ -Sn-DTPA เป็นสารประกอบติดฉลากที่มีคุณสมบัติเฉพาะตัวดีมาก คือ มีเสถียรภาพสูงสามารถใช้ได้ถึง 5 ชั่วโมง หลังติดฉลากเหมาะสำหรับใช้ศึกษา Glomerular Filtration Rate (2)  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA สามารถกระจายตัวได้สูงสุดที่ renal cortex แต่มีค่า urinary excretion rate และ blood clearance ค่อนข้างต่ำ เหมาะที่จะใช้ถ่ายภาพ renal parenchyma (2)

ในจำนวนสารประกอบติดฉลากของเทคนิคเชียม-99 เก็ม ที่ใช้เป็น renal imaging agent ทั้งหมดที่กล่าว ข้างต้น  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA มีข้อดีกว่าสารเภสัชภัณฑ์รังสีอื่นๆ คือ มีคุณสมบัติทางชีววิทยา คล้ายคลึงกับ chlormerodrin ทำให้สามารถกระจายตัวในส่วนของ renal cortex ได้สูงสุดใน เวลา 1 ชั่วโมง (1) นอกจากนี้อัตราส่วนของ kidney-to-blood, kidney-to-liver และ kidney-to-muscle มีค่าสูง ทำให้ใช้ถ่ายภาพได้ผลดีและได้ภาพที่ชัดเจน แต่มีข้อเสีย คือ ถูก oxidised ได้ง่ายในอากาศ จึงต้องใช้เวลา 30 นาที หลังเตรียมเสร็จ(2)

การศึกษาความคงตัวและสภาวะเหมาะสมในการติดฉลากสารประกอบสำเร็จรูป DMSA ด้วย  $\text{Tc-99m}$  เพื่อให้ทราบถึงอายุการใช้งาน และสภาวะเหมาะสมที่ทำให้ได้ร้อยละของสารประกอบติดฉลาก  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA สูงสุด วิถีหาร้อยละของสารประกอบติดฉลากและองค์ประกอบต่างๆ ดังกล่าวทำได้หลายวิธี คือ ใช้วิธีของ USP XXI (3) และ Phan และ Wanish (4)

ซึ่งเป็นวิธีเดียวกัน ใช้ ITLC-SA เป็น stationary phase และ upper organic phase ของ n-butanol ซึ่งอิมิตัวด้วยกรดเกลือ 0.3 โมลาร์ (1:1) เป็น mobile phase เปรียบเทียบกับวิธีของกรีก (5) ซึ่งใช้ ITLC-SG เป็น stationary phase และ MEK และ 5% glycine เป็น mobile phase

การทดลองทำการศึกษารอบคลุมถึงการหาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี และสภาวะเหมาะสมในการติดฉลากสารประกอบสำเร็จรูปของ  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA เพื่อให้ได้ร้อยละของสารประกอบติดฉลากมีค่าสูงสุด รวมถึงเพื่อให้ทราบถึงเวลาการใช้งานของสารประกอบติดฉลาก (shelf - life) และวันหมดอายุของสารประกอบสำเร็จรูปชนิดผงแห้ง (lyophilized)

## 2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

### วัสดุอุปกรณ์

1. โซเดียมเปอร์เทคโนโลยีท (เทคโนโลยีท-99 เอ็ม) ผลิตโดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย และสารประกอบสำเร็จรูป DMSA ชนิดผงแห้งผลิตโดย กองผลิตไอโซโทป สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ

2. Instant thin layer chromatography, ITLC-SA และ SG ขนาด 1.5 x 15 ซม. (Gelman-Sciences Inc., Ann Arbor, MI) ใช้เป็น stationary phase

3. ตัวทำละลายซึ่งใช้เป็นตัวชะ ประกอบด้วย methyl ethyl ketone (MEK), 85 % methanol, 5 % glycine และ upper organic phase n-butanol ซึ่งอิมิตัวด้วยกรดเกลือ 0.3 โมลาร์ (1:1)

### วิธีการ

#### I. ศึกษาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี (Radiochemical Purity)

ติดฉลากสารประกอบสำเร็จรูป DMSA โดยฉีดสารละลาย โซเดียมเปอร์เทคโนโลยีท

(เทคนิคเชื่อม-99 เค็ม) ความแรงรังสีประมาณ 30 มิลลิคูรี ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในสารประกอบสำเร็จรูป DMSA ชนิดผงแห้ง (ประกอบด้วย DMSA 1 มิลลิกรัม  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.42 มิลลิกรัม, inositol 50 มิลลิกรัม และ ascorbic acid 0.7 มิลลิกรัม) เซย่าแรงๆ ประมาณ 1 นาที จะได้สารประกอบติดฉลาก  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA วัดความเป็นกรด-ด่าง ของสารประกอบติดฉลาก และศึกษาความบริสุทธิ์ที่ทางเคมีรังสีของสารประกอบติดฉลากดังกล่าว ซึ่งทำได้ 2 วิธี คือ

วิธีที่ 1 ใช้ ITLC-SA เป็น stationary phase และ upper organic phase of n-butanol ที่ อิ่มตัวด้วย HCl 0.3 M(1:1) เป็น mobile phase  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertechnetate จะเคลื่อนที่ไปถึง solvent front (Rf 1.0) และ tin colloid ยังคงอยู่ที่จุดเริ่มต้น (Rf = 0)

วิธีที่ 2 ใช้ ITLC-SG เป็น stationary phase ใช้ mobile phase 3 ชนิด เรียงตามลำดับกัน คือ MEK, 5 % glycine และ 85 % methanol ปรับปรุงจากวิธีของกรีก เพื่อแยกสารประกอบเชิงซ้อนอีกชนิดหนึ่งของ  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA secondary complex ออกจาก  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tin colloid  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertechnetate จะเคลื่อนที่ไปถึง solvent front ของ MEK (Rf = 1)  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA primary complex เคลื่อนที่ไปยัง solvent front ของ 5 % glycine (Rf = 0.7) และ  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA secondary complex เคลื่อนที่ไปยัง solvent front ของ 85 % methanol (Rf = 0.3) ขณะที่  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tin colloid ยังคงอยู่ที่จุดเริ่มต้น (Rf = 0)

นำแผ่น ITLC-SA และ SG จากทั้งสองวิธีการ scan โดยใช้เครื่องวัดรังสีแบบ Scanner ซึ่งคู่กับหัววัด NaI(Tl) (Berthold DUNNSCISCT-SCANNER II, LB 2723, W. Germany) เพื่อศึกษาการกระจายตัวขององค์ประกอบต่างๆ แสดงในรูป 1a และ 1b จากนั้นนำแผ่น strip ทั้งสองตัดเป็นแผ่นเล็กๆ ขนาด 1 ซม. วัดการกระจายตัวขององค์ประกอบต่างๆ โดยใช้เครื่องนับรังสีอัตโนมัติ (Automatic Gamma Counter, COBRA II Auto-Gamma Counting System, PACKARD Instrument Company, USA) แล้วนำไปคำนวณค่าร้อยละของการติดฉลากได้จาก :

$$\% \text{ } ^{99\text{m}}\text{Tc-DMSA} = 100 - (\% \text{ } ^{99\text{m}}\text{TcO}_4^- + \% \text{ } ^{99\text{m}}\text{Tc-tin colloid})$$

## II. ศึกษาสภาวะเหมาะสมในการติดฉลาก

ศึกษาสภาวะเหมาะสมในการติดฉลาก โดยหาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี ที่เวลาต่างๆ กันตั้งแต่ 15, 30, 60, 120, 180 นาทีหลังติดฉลาก ใช้สารละลายโซเดียมเปอร์เทคนิค (เทคนิคซีสม-99 เก็ม) ความแรงรังสี 30 มิลลิคูรี/2 มิลลิลิตร ร้อยละขององค์ประกอบต่างๆ แสดงในรูปที่ 2

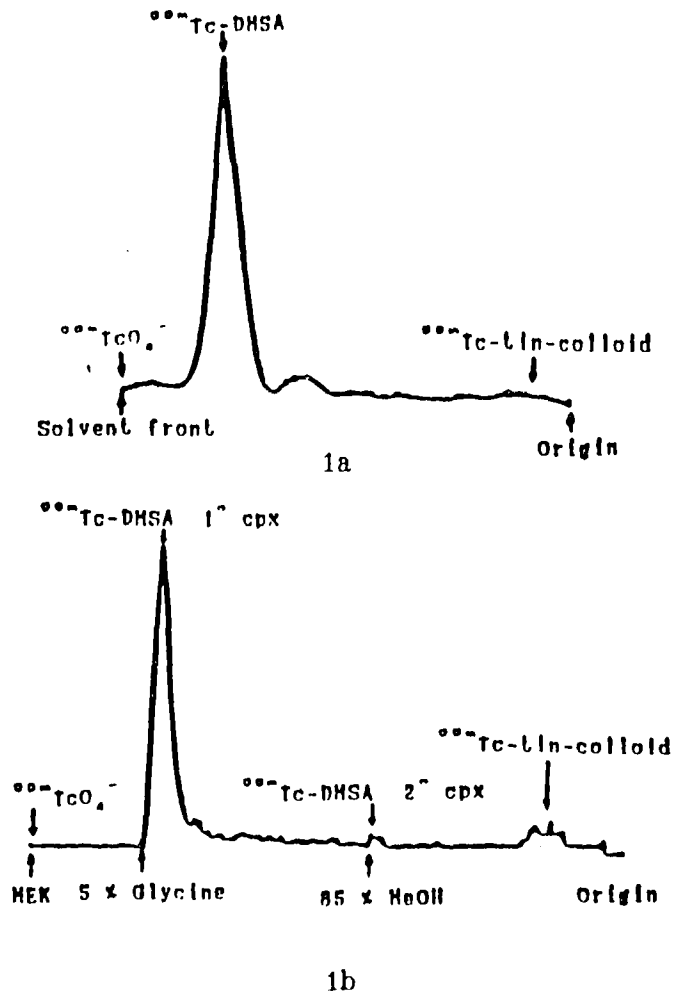
นอกจากนี้ยังศึกษาความแรงรังสีและปริมาตรของสารละลายโซเดียมเปอร์เทคนิคต่อผลของการติดฉลาก โดยเปลี่ยนแปลงปริมาตรของสารละลายดังกล่าวตั้งแต่ 0.5-3.0 มิลลิลิตร และความแรงรังสีตั้งแต่ 10 - 100 มิลลิคูรี ร้อยละขององค์ประกอบต่างๆ แสดงในรูปที่ 3 และ 4

## III. ศึกษาความคงตัวของสารประกอบสำเร็จรูป DMSA ชนิดผงแห้ง

สารประกอบสำเร็จรูป  $^{99m}\text{Tc-DMSA}$  เตรียมได้โดยฉีดสารละลายโซเดียมเปอร์เทคนิค (เทคนิคซีสม-99 เก็ม) ในน้ำเกลือ 0.9 % ความแรงรังสีประมาณ 30 มิลลิคูรี/2 มิลลิลิตร ลงในสารประกอบสำเร็จรูปชนิดผงแห้ง ศึกษาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีหลังติดฉลาก 15 นาที โดยวิธีการข้างต้น ทำการศึกษาเป็นช่วงเวลาจนครบ 6 เดือน หาร้อยละขององค์ประกอบต่างๆ ซึ่งแสดงในรูปที่ 5

### 3. ผลการศึกษาวิจัย

I. การศึกษาความบริสุทธิ์ทางรังสีของ  $^{99m}\text{Tc-DMSA}$  โดยใช้วิธีที่ 1 เปรียบเทียบกับวิธีที่ 2 การกระจายตัวขององค์ประกอบต่างๆ แสดงในรูปที่ 1a และ 1b



รูป 1 การกระจายตัวขององค์ประกอบต่างๆ ของสารประกอบติดฉลาก  $^{99m}\text{Tc-DMSA}$  หลังติดฉลาก 15 นาที ใช้สารละลายโซเดียมเปอร์เทคนิเทต (เทคนิเชียม-99 เอ็ม) ความแรงรังสี ประมาณ 30 มิลลิวรี่/2มิลลิลิตร

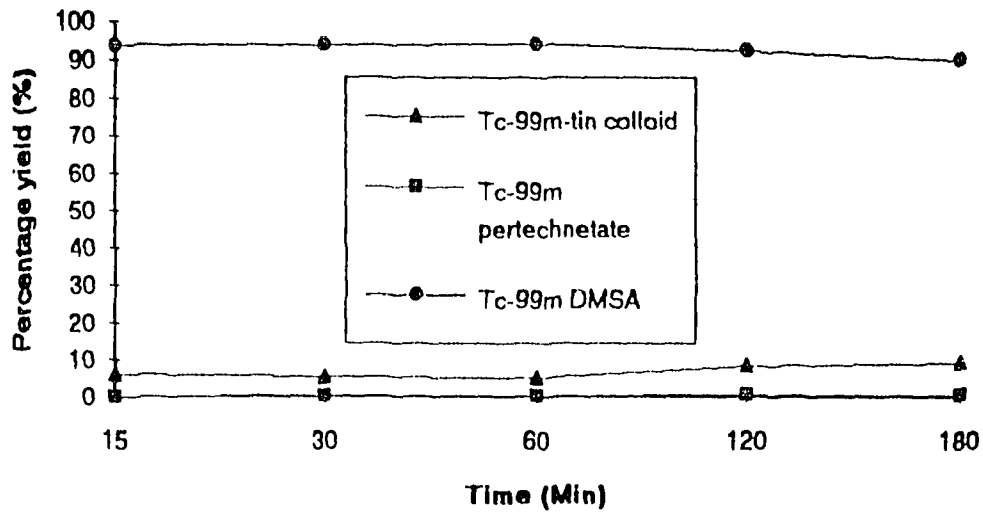
1a stationary phase : ITLC-SA

mobile phase : upper organic phase of n-butanol saturated with HCl 0.3 M (1:1)

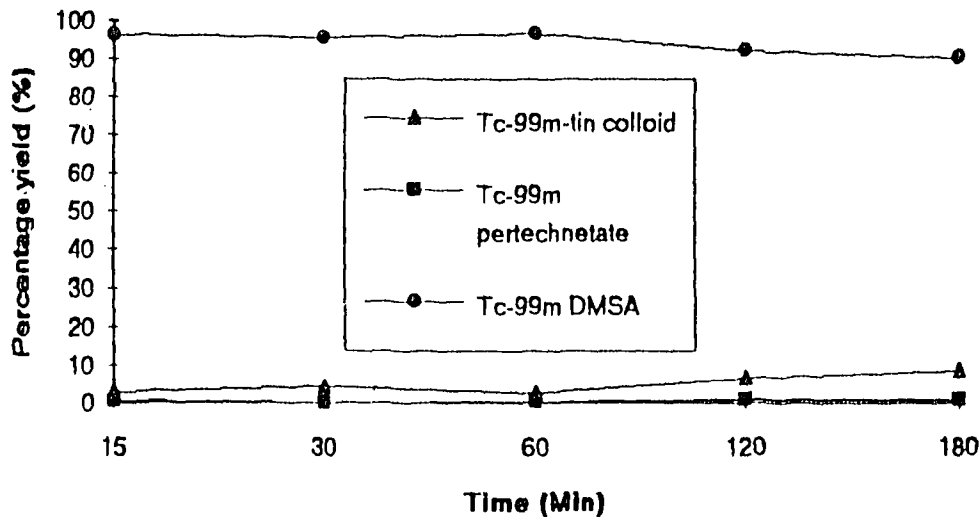
1b stationary phase : ITLC-SG

mobile phase : MEK, 5% glycine, 85% methanol

II. การศึกษาสภาวะเหมาะสมของการติดฉลากโดยเปลี่ยนแปลงเวลาในการศึกษาความบริสุทธิ์  
ทางเคมีรังสี แสดงในรูป 2



2a



2b

รูป 2 ร้อยละขององค์ประกอบต่างๆ ของสารประกอบติดฉลาก  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA ที่เวลาต่างๆ  
หลังการติดฉลาก

2a stationary phase : ITLC-SA

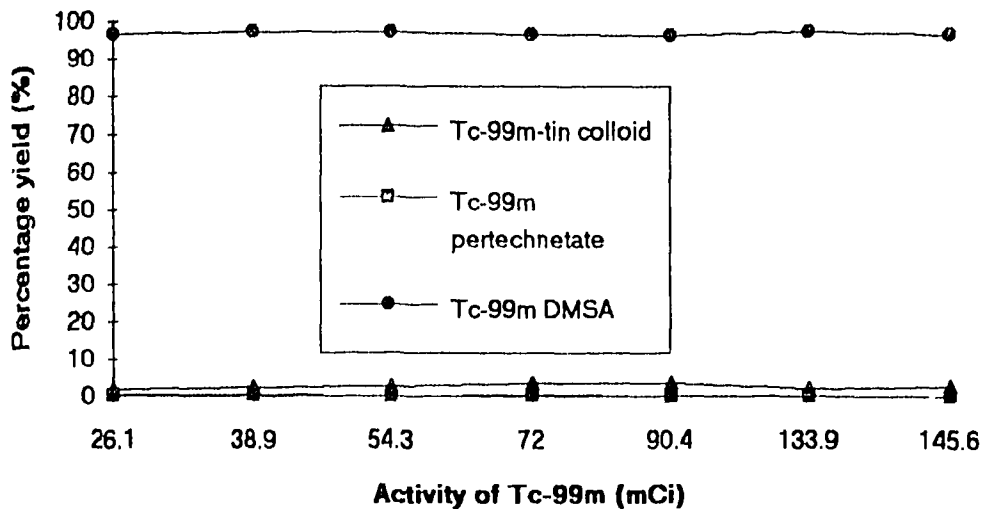
mobile phase : upper organic phase of n-butanol saturated  
with HCl 0.3 M (1:1)

2b stationary phase : ITLC-SG

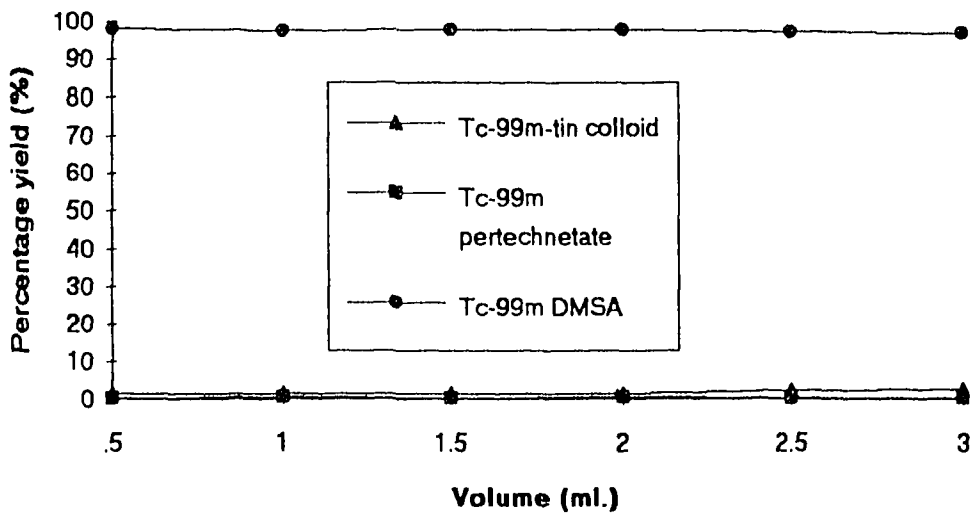
mobile phase : MEK, 5% glycine, 85% methanol



ผลของการเปลี่ยนแปลงความแรงรังสี และปริมาณที่มีต่อการติดฉลาก แสดงในรูปที่ 3 และ 4



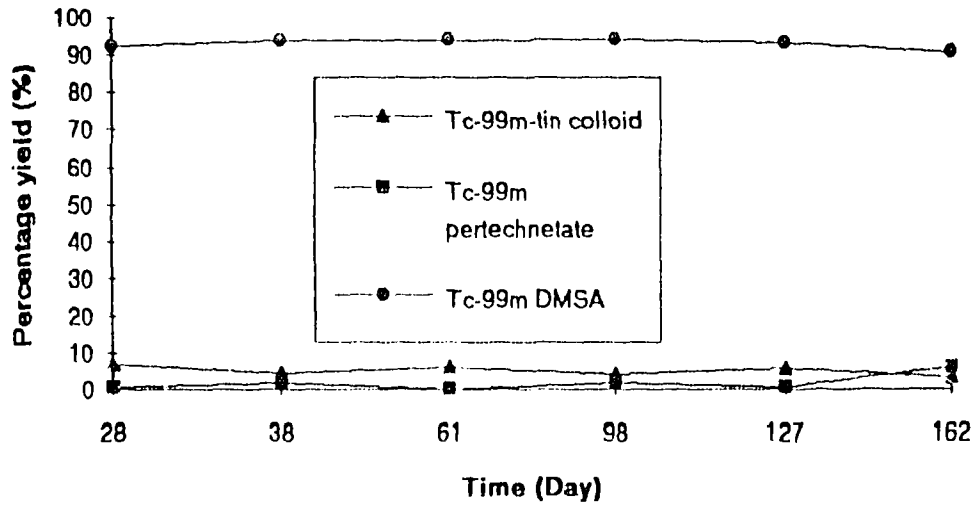
รูป 3 ผลของความแรงรังสีที่มีต่อร้อยละขององค์ประกอบต่างๆ ของสารประกอบติดฉลาก  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA ใช้สารละลายโซเดียมเปอร์เทคนิเทต (เทคนิคซีสม-99 เอ็ม) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เวลาหลังการติดฉลาก 15 นาที



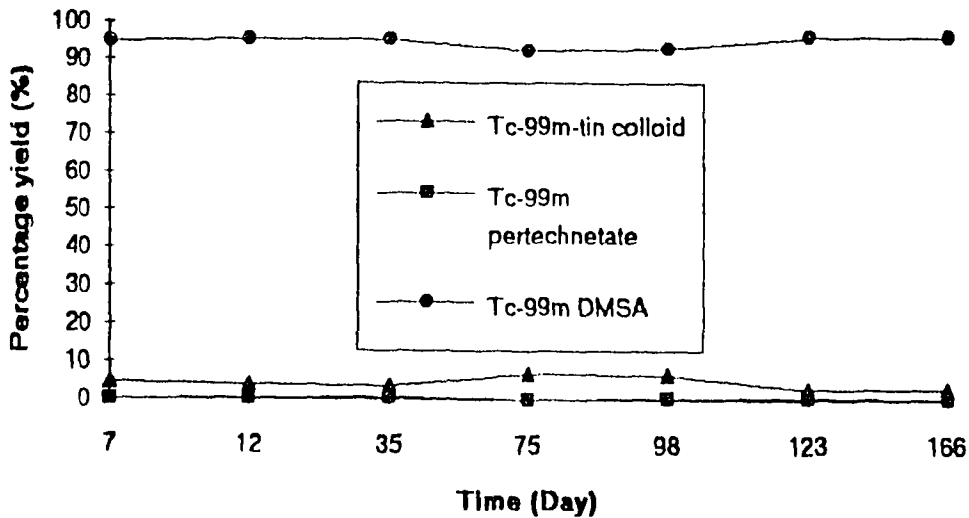
รูป 4 ผลของปริมาณที่มีต่อร้อยละขององค์ประกอบต่างๆ ของสารประกอบติดฉลาก  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA ใช้สารละลายโซเดียมเปอร์เทคนิเทต (เทคนิคซีสม-99 เอ็ม) ความแรงรังสี 30 มิลลิวูรี เวลาหลังติดฉลาก 15 นาที

III. การศึกษาความคงตัวของสารประกอบสำเร็จรูป DMSA ชนิดผงแห้ง

ความบริสุทธิ์ที่ทางเคมีรังสีของสารประกอบสำเร็จรูป DMSA เมื่อติดฉลากด้วย  $Tc^{99m}$  หลังจากเก็บไว้ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน แสดงในรูป 5



5a



5b

รูป 5 ความคงตัวของสารประกอบสำเร็จรูป DMSA ชนิดผงแห้ง เมื่อติดฉลากกับสารละลาย  $Tc^{99m}$  เดียมเปอร์เทคนิเทต (เทคนิเทียม-99 เอ็ม)

5a stationary phase : ITLC-SA

mobile phase : upper organic phase of n-butanol saturated with HCl 0.3 M (1:1)

5b stationary phase : ITLC-SG

mobile phase : MEK, 5% glycine, 85% methanol

## 5. บทวิจารณ์และสรุปผล

การศึกษาความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี ของ  $^{99m}\text{Tc-DHSA}$  โดยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 พบว่า สามารถแยกแต่ละองค์ประกอบออกจากกันได้ค่อนข้างชัดเจน (รูป 1a, 1b) ร้อยละของการติดฉลาก มีค่าสูงสุดหลังติดฉลากประมาณ 1 ชั่วโมง ( $\approx 95\%$ ) และต่อๆ อดลงจนต่ำกว่าค่าที่ยอมรับได้ (acceptance limit,  $\approx 90\%$ ) ในชั่วโมงที่สาม ส่วนร้อยละของ  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  มีค่าต่ำสุดหลังจากติดฉลาก 15 นาที โดยจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในชั่วโมงที่ 1 หลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่วนร้อยละของ  $^{99m}\text{Tc-tin colloid}$  มีค่าต่ำสุดในชั่วโมงที่ 1 หลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ และค่อนข้างคงที่ เมื่อเปรียบเทียบกับ วิธีที่ 2 (รูป 2a, 2b) ได้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับวิธีแรก แต่ร้อยละของสารประกอบติดฉลากในชั่วโมงที่หนึ่งสูงกว่าวิธีแรก ( $\approx 98\%$ ) เนื่องจากในการวิเคราะห์โดยวิธีแรกใช้เวลาในการทำ chromatography ค่อนข้างนาน ทำให้สารประกอบ  $^{99m}\text{Tc-DHSA}$  บางส่วนสลายตัวเนื่องจากถูกแสงสว่างเปลี่ยนเป็นองค์ประกอบอื่นๆ และเมื่อแยกโดยวิธีที่ 2 จะสามารถแยกองค์ประกอบอีกชนิดหนึ่งของ  $^{99m}\text{Tc-DHSA}$  ออกจาก  $^{99m}\text{Tc-tin colloid}$  ได้ (ไม่สามารถหาเอกสารอ้างอิงที่สามารถยืนยันตรงตัวที่แน่นอนได้) อย่างไรก็ตามองค์ประกอบชนิดที่สอง  $^{99m}\text{Tc-DHSA}$  ไม่มีผลต่อการกระจายตัวของ  $^{99m}\text{Tc-DHSA}$  ภายในร่างกาย สันนิษฐานว่าโครงสร้างทั้งสองชนิดนี้อาจจะเปลี่ยนกลับไปมาได้

สรุปได้ว่าการแยกโดยวิธีแรกค่อนข้างสะดวก เพราะใช้ mobile phase เพียงชนิดเดียวแต่ใช้เวลาชกนาน วิธีที่ 2 รุ่งหากว่าเพราะใช้ mobile phase ถึง 3 ชนิด แต่ให้ผลการแยกที่ชัดเจนกว่าและรวดเร็วกว่า

การศึกษาสภาวะเหมาะสมในการติดฉลากได้เลือกใช้ วิธีที่ 2 เพราะเป็นวิธีที่รวดเร็วและมีผลการแยกที่ชัดเจนกว่า เมื่อเปลี่ยนความแรงรังสีและปริมาตรของสารละลายโซเดียมเปอร์เทคนิค (เทคนิคเซียม-99 เอ็ม) ไม่มีผลต่อร้อยละของสารประกอบติดฉลาก  $^{99m}\text{Tc-DHSA}$  (รูป 3 และ 4) อย่างไรก็ตามในการศึกษารั้งนี้ สามารถเปลี่ยนแปลงปริมาตรของสารละลายโซเดียมเปอร์เทคนิค (เทคนิคเซียม-99 เอ็ม) ได้ไม่เกิน 3 มิลลิลิตร และความแรงรังสีสูงสุดได้ประมาณ 150 มิลลิวูรี่ เพราะความแรงรังสีสูงสุดของสารละลายโซเดียมเปอร์เทคนิค (เทคนิคเซียม-99 เอ็ม) ที่ผลิตได้สูงสุดประมาณ 50 มิลลิวูรี่/มิลลิลิตร ถ้าใช้ปริมาตรสูงกว่านี้ pH ของสารประกอบติดฉลากจะมากกว่า 3 ซึ่งสูงกว่าค่าที่ยอมรับได้

การศึกษาความคงตัวของสารประกอบสำร็จรูป DMSA ชนิดผงแห้ง

ได้ทำการเปรียบเทียบทั้งสองวิธีการ พบว่าสามารถเก็บสารประกอบสำร็จรูปไว้ได้นานประมาณ 6 เดือน หรือมากกว่านั้น ที่อุณหภูมิ 4 °C รั่วไหลของ  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA ค่อนข้างสูง (>90 %) โดยที่รั่วไหลขององค์ประกอบอื่นๆ ที่เป็นสารปนเปื้อนค่อนข้างต่ำ

จากผลการศึกษาทั้งหมดนี้ได้นำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมคุณภาพสารประกอบสำร็จรูป DMSA ชนิดผงแห้งที่ผลิตขึ้นในครั้งต่อไป

## 6. References

1. Daly, M.J., W. Jones, T.G. Rudd and J. Tremann Differential Renal Function Using Technetium-99m Dimercaptoouccinic Acid (DMSA) : in Vitro Correction. J. Nucl. Med. 20(1): 63-66,1979.
2. Arnold, R.S. et.al. Comparison of  $^{99m}\text{Tc}$  Complexes For Renal Imaging. J. Nucl. Med 16(5): 357-367.
3. United States Pharmacopeial Convention, Inc. The United States Pharmacopeia, twenty first revision. Mack Printing Company, Easton, 1985.
4. Phan, T. and R. Washnish. Practical Nuclea Pharmacy. 2<sup>nd</sup> Edition, Banyan Enterprises, Ltd. Hawaii. 1981.
5. Belkas, E.P. and S. Archimandritis. Radionucledic and Radiochemical Quality Control of Radioisotopes Radiopharmaceuticals. Part II Laboratory Manual. N.C.S.R. "DEMOKRITOS" Athens. 1982.