หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การสังเคราะห์สารประกอบเมตา-ไอโอโดเบนซิลกัวนิดีนซัลเฟต (MIBG 0.5 H_2SO_4)

สารเคมี

- เมตา-ไอโอโดเบนซิลามีนไฮโดรคลอไรด์ (m-iodobenzylamine hydrochloride) 97%, Aldrich
- ไซยานาไมด์ (cyanamide), Sigma
- เอส-เมทิลไอโซไธโอยูเรีย (S-methylisothiourea), Sigma
- โปแตสเซียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (potassium hydrogen carbonate) A.R.grade, Merck
- เอธิลอัลกอฮอล์ (ethyl alcohol) A.R.grade, Merck
- กรดซัลฟุริก 95% (sulfuric acid) A.R.grade, Merck
- สารละลายแอมโมเนีย 25% (ammonium hydroxide) A.R.grade, Merck
- เอธิลอะซิเตท (ethyl acetate) A.R.grade, Merck

วัสดุและเครื่องมือ

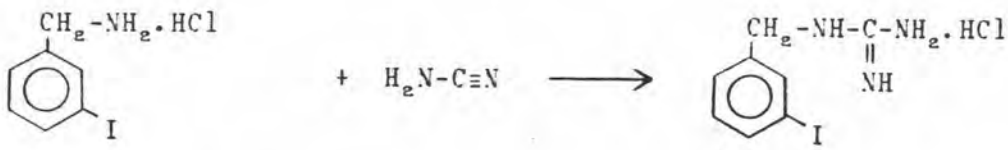
- ขวดก้นกลมขนาด 5 ml พร้อมจุกแก้ว
- ขวดก้นกลมขนาด 50 ml
- คอนเดนเซอร์
- ชุดกรองตะกอนประกอบด้วย Buchner funnel, suction flask, ปั๊มสูญญากาศ และกระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 41
- Whatman K6F, Al Sil G/UV, Flexible plates for TLC
- เทอร์โมมิเตอร์ 0-250°C

- Ultraviolet handlamp ความยาวคลื่น 254 และ 365 นาโนเมตร model UV GL-15 ของ UVP, Inc, USA.
- เตาร้อนพร้อมเครื่องกวนด้วยแม่เหล็ก, IKAMAG RCT, Ika-laboratory
- เครื่องหาจุดหลอมเหลว (Melting point apparatus) ของบริษัท Thomas scientific, USA.

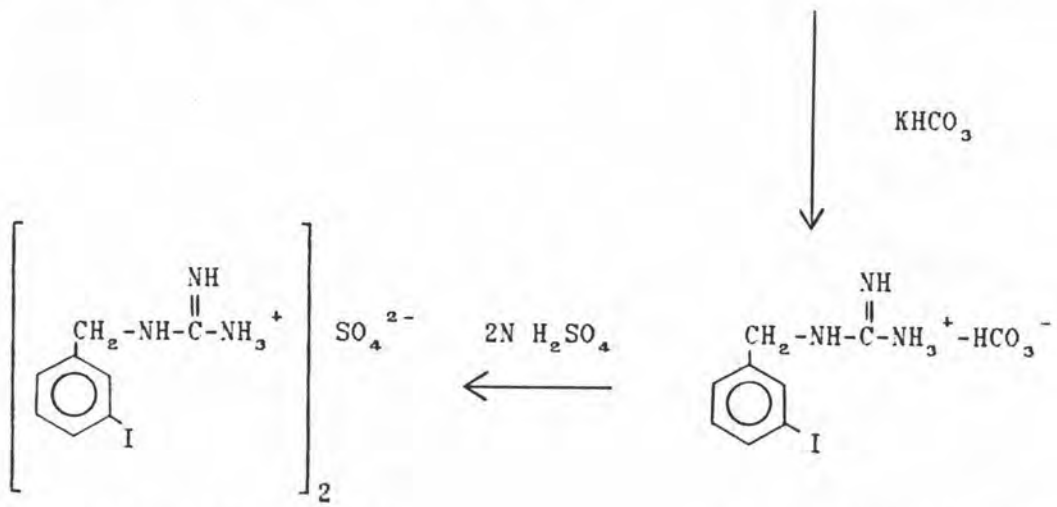
<u>วิธีทดลอง</u>

3.1.1 <u>วิธีที่ 1</u>

เตรียมสารประกอบ MIBG 0.5 H_2SO_4 จากปฏิกิริยาระหว่าง m-iodobenzylamine hydrochloride กับ cyanamide(4,7) ตามสมการ



m-iodobenzylamine HCl cyanamide m-iodobenzylguanidine HCl



m-iodobenzylguanidine sulfate (MIBG 0.5 H_2SO_4)

m-iodobenzylguanidine bicarbonate

..... (24)

เตรียมโดยผสม m-iodobenzylamine hydrochloride 539 mg (2 mmol) กับ cyanamide 127 mg (3 mmol) ในขวดก้นกลมขนาด 5 ml ปิดจุก นำไปให้ความร้อนและคนใน oil bath ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จะได้ของแข็งสีเหลืองอ่อนใสคล้ายแก้ว (glassy solid) นำมาละลายในน้ำร้อน 1 ml แล้วค่อย ๆ เติมสารละลาย $KHCO_3$ (200 mg, 2 mmol ใน น้ำกลั่น 1 ml) ทีละหยดพร้อมคนตลอดเวลา จะเกิดตะกอนสีขาวของ m-iodobenzylguanidine bicarbonate นำไปทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C กรองและล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำเย็น แล้วทำให้แห้งใน สุญญากาศ ชั่งน้ำหนักของสารที่ได้ และหาจุดหลอมเหลวได้ 124-126°C

นำ m-iodobenzylguanidine bicarbonate 539 mg(1.6 mmol) มาเติมน้ำ 5 ml แล้วค่อย ๆ เติม 2N H_2SO_4 (1.6 mEq) ทีละหยดพร้อมคนตลอดเวลา อุ่น suspension ที่ได้จน ละลายหมด กรอง ปล่อยให้เย็นและตกผลึกช้า ๆ ที่อุณหภูมิห้อง กรองแยกผลึกและล้างด้วยน้ำเย็นแล้ว ทำให้แห้งในสุญญากาศ จะได้ m-iodobenzylguanidine sulfate ชั่งน้ำหนักของสารที่ได้และหา จุดหลอมเหลวได้ 162-163°C

ตรวจสอบความบริสุทธิ์ขั้นต้นของสารที่เตรียมได้ด้วยวิธี Thin-layer chromatography (TLC) โดยใช้ Whatman K6F และ EtOAc : EtOH : NH_4OH = 20 : 20 : 1 เป็น solvent แล้วส่องchromatogram ด้วย UV handlamp ซึ่งถ้าผลิตผลที่ได้มีความบริสุทธิ์จะเห็นตำแหน่งของ สารที่แยกมาได้เพียงตำแหน่งเดียว ตกผลึกซ้ำอีกครั้งด้วยน้ำกลั่น หาจุดหลอมเหลวได้ 164-165°C นำไปตรวจสอบความบริสุทธิ์ของ MIBG 0.5 H_2SO_4 ที่เตรียมได้ โดยส่งไปตรวจสอบ IR และ NMR spectrum และวิเคราะห์ธาตุ C, H, N ด้วยเครื่อง Elemental Analyzer ผลการตรวจสอบ แสดงในตารางที่ 4,5 และ 6

นอกจากนี้ได้ทดลองเปลี่ยนแปลงตัวแปรบางอย่างที่คาดว่าน่าจะมีผลต่อ percentage yield ได้แก่

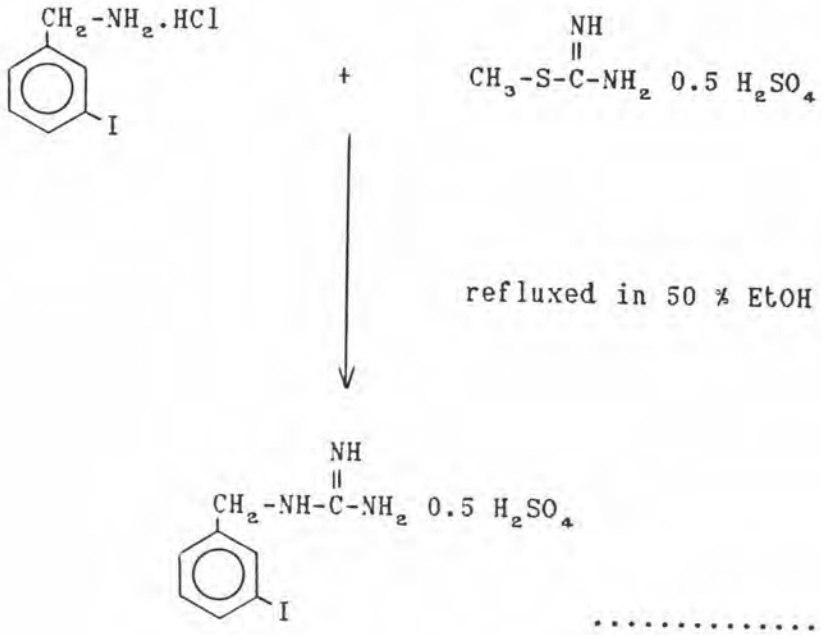
1. อัตราส่วนโมลของ m-iodobenzylamine HCl กับ cyanamide (1 : 1.5, 1 : 2 และ 1 : 3)

2. อุณหภูมิของปฏิกิริยา (100, 120, 140 และ 180°C)

โดยทำการทดลองตามวิธีการข้างต้น แล้วเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนโมลและอุณหภูมิของปฏิกิริยา ตามเงื่อนไขดังกล่าว เปรียบเทียบ percentage yield ที่ได้ เพื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการนำ มาใช้เตรียมสารประกอบ MIBG 0.5 H_2SO_4

3.1.2 วิธีที่ 2

เตรียมสารประกอบ MIBG 0.5 H_2SO_4 จากปฏิกิริยาระหว่าง m-iodobenzylamine hydrochloride กับ S-methylisothiourea (2-methyl-2-thio pseudourea hemisulfate)(15,16) ตามสมการ (25)



..... (25)

เตรียมโดยผสม m-iodobenzylamine HCl 539 mg กับ S-methylisothiourea 278 mg ในขวดก้นกลมขนาด 50 ml แล้วเติม 50% เอธานอล 10 ml นำไปรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 140°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C จะเกิดตะกอนสีขาวของ m-iodobenzylguanidine sulfate นำไปตรวจสอบความบริสุทธิ์เช่นเดียวกับวิธีที่ 1

3.2 การติดฉลากสารประกอบ MIBG 0.5 H_2SO_4 ด้วยไอโอดีน-131

ในขั้นนี้จะนำ MIBG 0.5 H_2SO_4 บริสุทธิ์ที่สังเคราะห์ได้จาก 3.1 มาติดฉลากด้วยไอโอดีน-131 โดยใช้ปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนไอโอไดด์ตามวิธีการต่าง ๆ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน โดยตอนแรกจะหาเฉพาะเปอร์เซนต์การติดฉลากเพื่อเปรียบเทียบในการเลือกวิธีที่ดีที่สุด สำหรับนำมาใช้เตรียมสารประกอบติดฉลาก I-131 MIBG ต่อไป วิธีการที่ทดลองใช้ได้แก่

1. Ascorbic acid-Cu(I)
2. $PdCl_2$ catalyst
3. Solid-phase exchange [$(NH_4)_2SO_4$]
4. $CuSO_4$-$NH_4H_2PO_4$

สารเคมี

- สารละลายโซเดียมไอโอไดด์-131 (NaI-131) ในสารละลายคาร์บอเนตบัฟเฟอร์ pH 8-10 ความเข้มข้นประมาณ 300 mCi/ml จากกองผลิตไอโซโทป สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ
- สารประกอบเมตา-ไอโอโดเบนซิลกัวนิดีนซัลเฟต (MIBG 0.5 H_2SO_4) สังเคราะห์ได้จาก 3.1
- คอปเปอร์ (II) ไนเตรท (Copper (II) nitrate) A.R.grade, Fluka
- กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) A.R.grade, Merck
- พัลลาเดียม (II) คลอไรด์ (Palladium (II) chloride) A.R.grade, Merck
- แอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium sulfate) A.R.grade, Seelze-Hannover
- คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต (Copper (II) sulfate) A.R.grade, Merck
- แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Ammonium dihydrogen phosphate) A.R.grade, BDH
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide pellet) A.R.grade, Merck
- กรดอะซิติก (Acetic acid) A.R.grade, Merck
- โซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate) A.R.grade, BDH
- น้ำกลั่น 2 ครั้ง

วัสดุและเครื่องมือ

- ขวดรูปหัวใจขนาด 5 ml
- คอนเดนเซอร์
- ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 10-100 μl
- เทอร์โมมิเตอร์ 0- 250°C
- เตาร้อน
- เครื่องวัดกัมมันตภาพรังสี Deluxe Isotope Calibrator (II) Model 34-056 ของบริษัท Victoreen, USA.

วิธีเตรียมสารละลาย

สารละลายโซเดียมไอโอไดด์-131 pH 10 เตรียมโดยนำสารละลายโซเดียมไอโอไดด์-131 ในสารละลายคาร์บอเนตบัฟเฟอร์ มาทำให้เจือจางด้วย 0.1 N NaOH ให้มีความเข้มข้นประมาณ 100 mCi/ml

สารละลายคอปเปอร์ (II) ไนเตรท เตรียมโดยละลาย $Cu(NO_3)_2.3H_2O$ 15 mg ในกรดอะซิติก (CH_3COOH) 10 ml

สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 M pH 4.2 เตรียมโดยละลายโซเดียมอะซิเตท 3.92 g ในกรดอะซิติกเข้มข้น 9.6 ml แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาณ 1 ลิตร

สารละลายพัลลาเดียม (II) คลอไรด์ เตรียมโดยละลาย $PdCl_2$ 17.33 mg ในน้ำกลั่น 10 ml

สารละลายคอปเปอร์ (II) ซัลเฟต เตรียมโดยละลาย $CuSO_4.5H_2O$ 20 mg ในน้ำกลั่น 10 ml

สารละลายแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 0.1 M เตรียมโดยละลาย $NH_4H_2PO_4$ 1.15 g ในน้ำกลั่น 100 ml

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 M เตรียมโดยละลาย NaOH 4 g ในน้ำกลั่น แล้วทำให้มีปริมาตร 1 ลิตร

วิธีทดลอง

3.2.1 Ascorbic acid-Cu(I)(22)

วิธีนี้ใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นตัวรีดิวซ์ (reducing agent) จะรีดิวซ์ Cu(II) ไปเป็น Cu(I) ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไอโซโทป

ขั้นตอนการเตรียม

นำ 2 mg MIBG 0.5 H_2SO_4 ใส่ในขวดรูปหัวใจขนาด 5 ml แล้วเติม 10 μl สารละลายคอปเปอร์ (II) ไนเตรท น้ำกลั่น 40 μl กรดแอสคอร์บิก 2 mg และสารละลายโซเดียมไอโอไดด์-131 ความแรงรังสีประมาณ 5 mCi (ปริมาตร $\leq$ 50 μl) ปิดจุกขวดแล้วให้ความร้อนด้วย oil bath ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 15 นาที จะได้สารประกอบติดฉลาก I-131 MIBG ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาหาเปอร์เซนต์การติดฉลาก ตามวิธีการในข้อ 3.2.5

ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 7

3.2.2 $PdCl_2$ Catalyst(23)

วิธีนี้ใช้พัลลาเดียมอิออน (Pd^{2+}) ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนตามสมการ(26)

$$MIBG + Pd^{2+} \longrightarrow MIBG\text{-}Pd \xrightarrow{NaI^*} MI^*BG\text{-}Pd \xrightarrow{\text{hydrolysis}} MI^*BG + PdI_2 \quad ...(26)$$

ขั้นตอนการเตรียม

ละลาย 2 mg MIBG 0.5 H_2SO_4 ใน 1 ml 0.2 M สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.2 ใส่ขวดรูปหัวใจขนาด 5 ml แล้วเติม 10 μl สารละลายพัลลาเดียม (II) คลอไรด์ นำไปต้มในน้ำเดือด 1 นาที แล้วเติมสารละลายโซเดียมไอโอไดด์-131 ความแรงรังสีประมาณ 5 mCi (ปริมาตร $\leq$ 50 μl) ปิดจุกขวดแล้วต้มต่อจนเดือดเป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปหาเปอร์เซนต์การติดฉลากตามวิธีการในข้อ 3.2.5

ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 7

3.2.3 Solid-phase exchange [$(NH_4)_2SO_4$](18)

วิธีนี้ปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนจะเกิดในสภาวะของแข็ง (solid-phase) ในขณะที่ปฏิกิริยาเป็นกรดอ่อน (mildly acidic) และมีสภาวะออกซิไดส์ (oxidizing condition) ซึ่งเกิดจากการสลายตัวเมื่อถูกความร้อน (thermal decomposition) ของแอมโมเนียมซัลเฟตกลายเป็นแอมโมเนียและแอมโมเนียมไฮโดรเจนซัลเฟต

ขั้นตอนการเตรียม

ละลาย 2 mg MIBG 0.5 H_2SO_4 และ 2 mg แอมโมเนียมซัลเฟตในน้ำ 0.5 ml ใส่ขวดรูปหัวใจขนาด 5 ml แล้วเติมสารละลายโซเดียมไอโอไดด์-131 ความแรงรังสีประมาณ 5 mCi (ปริมาตร $\leq$ 50μl) นำไปให้ความร้อนใน oil bath ที่อุณหภูมิ 100°C จนแห้ง แล้วให้ความร้อนต่ออีก 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 140°C หลังจากนั้นนำมาเติมน้ำกลั่น 1 ml แล้วหาเปอร์เซนต์การติดฉลากตามวิธีการในข้อ 3.2.5

ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 7

3.2.4 $CuSO_4$-$NH_4H_2PO_4$(20)

วิธีนี้ใช้ Cu(II) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยน

ขั้นตอนการเตรียม

ละลาย 2 mg MIBG 0.5 H_2SO_4 ใน 10 μl สารละลายคอปเปอร์ (II) ซัลเฟต ใส่ขวดรูปหัวใจขนาด 5 ml แล้วเติม 100 μl สารละลายแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_4$) เข้มข้น 0.1 M และสารละลายโซเดียมไอโอไดด์-131 ความแรงรังสีประมาณ 5 mCi (ปริมาตร $\leq$ 50 μl) นำไปต้มใน oil bath จนแห้ง เติมน้ำกลั่น 1 ml แล้วรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 140°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปหาเปอร์เซนต์การติดฉลากตามวิธีการในข้อ 3.2.5

ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 7

3.2.5 การหาค่าเปอร์เซนต์การติดฉลาก

สารเคมี

- โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต โมโนไฮเดรต (Sodium dihydrogen phosphate 1-hydrate) A.R.grade, Merck
- ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต แอนไฮดรัส (diSodium hydrogen phosphate anhydrous) A.R.grade, Merck
- สารประกอบ MIBG 0.5 H_2SO_4 สังเคราะห์ได้จากข้อ 3.1
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide pellet) A.R.grade, Merck
- ยูเรีย (Uria) A.R.grade, M & B
- 1-แนพทอล (1-Napthol) Lab grade, M & B
- เอธานอล (Ethanol) A.R.grade, Merck
- น้ำโบรมีน (Bromine water) A.R.grade, Merck
- โปแตสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide) A.R.grade, Merck
- โปแตสเซียมไอโอเดต (Potassium iodate) A.R.grade, Merck
- พัลลาเดียม (II) คลอไรด์ (Palladium (II) chloride) A.R.grade, Merck
- เมธานอล (Methanol) A.R.grade, Merck

วัสดุและเครื่องมือ

- กระดาษวอทแมน (Whatman paper) เบอร์ 1 ขนาด 4 x 30 ซม.
- ขวดสำหรับฉีดพ่นสารเคมี (Aerosol propellant) ของ Sigma
- เครื่องอิเลคโตรฟอเรซิส (Electrophoresis) model 2301 Macrodrive 1 ของ LKB
- หัววัดไกเกอร์-มุลเลอร์ (Geiger-Muller detector, G.M.) ของ the Nucleus พร้อมเครื่องนับรังสี (Decade Scaler) model DS-3001 ของ OAEP

วิธีเตรียมสารละลาย

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.005 M pH 7.4 เตรียมโดย ละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1-ไฮเดรต ($NaH_2PO_4.H_2O$) 0.6 กรัม และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 2.2 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำให้มีปริมาตร 1 ลิตร

สารละลายสำหรับตรวจสอบ monosubstituted guanidine (Sakaguchi reagent)(36) ประกอบด้วย สารละลาย 1-แนพทอลที่เตรียมใหม่ก่อนใช้และสารละลายไฮโปโบรไมท์

สารละลาย 1-แนพทอล เตรียมโดยผสมสารละลาย 40% NaOH 2 ml สารละลาย 40% ยูเรีย 2 ml และสารละลายอิ่มตัวของ 1-แนพทอล 2 ml แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 100 ml

สารละลายไฮโปโบรไมท์ เตรียมโดยผสมน้ำโบรมีน 0.9 ml ในสารละลาย 10% NaOH 100 ml

สารละลาย 40% NaOH เตรียมโดยละลาย NaOH 40 g ในน้ำกลั่น แล้วทำให้มีปริมาตร 100 ml

สารละลาย 40% ยูเรีย เตรียมโดยละลายยูเรีย 40 g ในน้ำกลั่น แล้วทำให้มีปริมาตร 100 ml

สารละลายอิ่มตัวของ 1-แนพทอล เตรียมโดยละลาย 1-แนพทอลในเอธานอลจนอิ่มตัว แล้วกรองตะกอนของ 1-แนพทอลส่วนที่เหลือออก นำเฉพาะสารละลายไปใช้

สารละลาย 10% NaOH เตรียมโดยละลาย NaOH 10 g ในน้ำกลั่น แล้วทำให้มีปริมาตร 100 ml

สารละลาย 0.1% $PdCl_2$ สำหรับตรวจสอบ I^- และ IO_3^-(37) เตรียมโดยละลาย $PdCl_2$ 0.1 g ในเมธานอล 100 ml

สารละลาย MIBG 0.5 H_2SO_4 เตรียมโดยละลาย MIBG 0.5 H_2SO_4 2 mg ในน้ำกลั่น 100 μl อุ่นเล็กน้อยจนละลายหมด

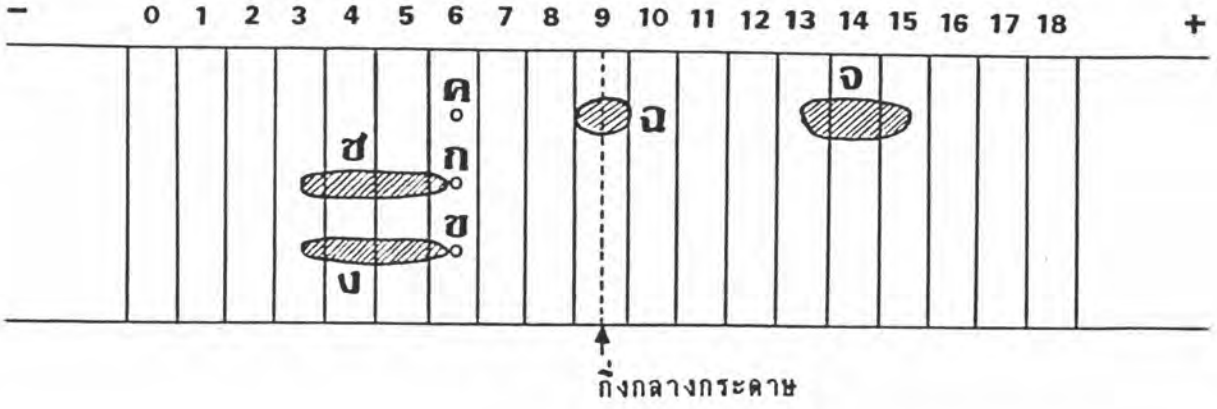
สารละลาย KI,KIO_3 เตรียมโดยละลาย KI 0.4 g และ KIO_3 0.5 g ในน้ำกลั่น 100 ml

วิธีหาเปอร์เซนต์การติดฉลาก

ใช้วิธีเปเปอร์อิเลคโตรฟอเรซิส (paper electrophoresis) ด้วยกระดาษวอทแมนเบอร์ 1 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.005 M pH 7.4 เป็นอิเลคโตรไลท์ ความต่างศักย์ 240 โวลต์ เวลา 45 นาที โดยหยดสารละลาย I-131 MIBG ปริมาณรังสีประมาณ 20,000 cpm ที่ตำแหน่งห่างจากกึ่งกลางกระดาษ 3 ซม. ไปทางขั้วลบ (จากรูปที่ 12 คือตำแหน่ง ซม. ที่ 6) เมื่อทำการแยกจนครบเวลา I-131 MIBG จะวิ่งไปทางขั้วลบประมาณ 0-3 ซม. ส่วน free iodide จะวิ่งไปทางขั้วบวก ประมาณ 7-9 ซม. (จากรูปที่ 12 ตำแหน่งของ I-131 MIBG จะอยู่บริเวณ ซม. ที่ 3 ถึง ซม. ที่ 6 ส่วนตำแหน่งของ free iodide จะอยู่บริเวณ ซม.ที่ 13 ถึง ซม.ที่ 15) นำกระดาษออกมาผึ่งให้แห้ง แล้วตัดกระดาษช่วงละ 1 ซม. นำไปวัดอัตรานับรังสี (count rate) โดยใช้หัววัดรังสีไกเกอร์-มุลเลอร์ ซึ่งต่อกับเครื่องนับรังสี นำมาคำนวณหาเปอร์เซนต์การติดฉลากตามสมการ (27)

$$\text{เปอร์เซนต์การติดฉลาก} = \frac{\text{ผลรวมของอัตรานับรังสีที่ตำแหน่งของ I-131 MIBG} \times 100\ \%}{\text{ผลรวมของอัตรานับรังสีทั้งหมด}} \quad \ldots (27)$$

หมายเหตุ : ตำแหน่งของ I-131 MIBG ตรวจสอบได้จากการหยดสารละลาย MIBG 0.5 H_2SO_4 ที่จุดเริ่มต้น (ดูรูปที่ 12) เมื่อทำการแยกจนครบเวลา แล้วสเปรย์กระดาษด้วยสารละลายสำหรับตรวจสอบ monosubstituted guanidine (Sakaguchi reagent) โดยสเปรย์สารละลาย 1-แนพทอลที่เตรียมใหม่ลงบนกระดาษก่อน ทิ้งไว้พอหมาดแล้วสเปรย์ตามด้วยสารละลายไฮโปโบรไมท์ ซึ่ง monosubstituted guanidine จะทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ดังกล่าว ปรากฏเป็นสีส้มแดง(36) ตำแหน่งของ free iodide ตรวจสอบได้จากการหยดสารละลาย KI, KIO_3 ที่จุดเริ่มต้น (ดูรูปที่ 12) แล้วสเปรย์กระดาษด้วยสารละลาย 0.1% $PdCl_2$ สำหรับตรวจสอบ I^- และ IO_3^- ซึ่ง I^- และ IO_3^- จะทำปฏิกิริยากับ $PdCl_2$ กลายเป็น PdI_2 และ $Pd(IO_3)_2$ ปรากฏเป็นสีน้ำตาล(37)



รูปที่ 12 การหาเปอร์เซนต์การติดฉลากโดยวิธีเปเปอร์อิเลคโตรฟอเรซิส

จากรูป ตำแหน่ง ก เป็นตำแหน่งที่หยดสารละลาย I-131 MIBG

ตำแหน่ง ข เป็นตำแหน่งที่หยดสารละลาย MIBG 0.5 H_2SO_4

ตำแหน่ง ค เป็นตำแหน่งที่หยดสารละลาย KI, KIO_3

บริเวณ ง เป็นบริเวณที่ให้ positive test กับ Sakaguchi reagent แสดงตำแหน่งของ MIBG

บริเวณ จ เป็นบริเวณที่ให้ positive test กับ $PdCl_2$ reagent แสดงตำแหน่งของ I^-

บริเวณ ฉ เป็นบริเวณที่ให้ positive test กับ $PdCl_2$ reagent แสดงตำแหน่งของ IO_3^-

บริเวณ ช เป็นบริเวณที่ตรวจนับรังสีจาก I-131 MIBG

จากผลการหาเปอร์เซนต์การติดฉลากของวิธีต่าง ๆ ตามการทดลองข้างต้น ดังแสดงในตารางที่ 7 พบว่าวิธี $CuSO_4$-$NH_4H_2PO_4$ ให้เปอร์เซนต์การติดฉลากสูงสุด จึงเลือกวิธีนี้มาใช้ในการเตรียมสารประกอบติดฉลาก I-131 MIBG ในขั้นต่อไป

3.3 การเตรียมสารประกอบติดฉลาก I-131 MIBG ด้วยวิธี $CuSO_4$-$NH_4H_2PO_4$

ในขั้นนี้จะศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อเปอร์เซนต์การติดฉลากได้แก่

ก. โมลของ Cu (II) ต่อโมลของ MIBG 0.5 H_2SO_4

ข. เวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยา

ค. pH ของปฏิกิริยา

3.3.1 ผลของโมล Cu (II) ต่อโมลของ MIBG 0.5 H_2SO_4

หาเปอร์เซนต์การติดฉลาก เมื่อใช้โมลของ Cu(II) ต่อโมลของ MIBG 0.5 H_2SO_4 ต่าง ๆ กันได้แก่ 0, 0.2×10^{-3}, 1×10^{-3}, 2×10^{-3}, 5×10^{-3}, 10×10^{-3} และ 20×10^{-3} โดยทำการทดลองตามวิธีการในข้อ 3.2.4 ใช้ MIBG 0.5 H_2SO_4 2 mg สารละลาย 0.1 M $NH_4H_2PO_4$ 100 μl และ NaI-131 5 mCi/50 μl ส่วนสารละลาย $CuSO_4.5H_2O$ใช้ปริมาตรต่าง ๆ กันดังนี้

โมล Cu(II)/โมล MIBG 0.5 H_2SO_4 ($\times 10^{-3}$)	ความเข้มข้นของสารละลาย Cu(II) (mg/ml)	ปริมาตรของสารละลาย Cu(II) (μl)
0	-	-
0.2	0.027	11
1	0.027	57
2	0.272	11
5	0.272	28
10	0.272	57
20	2.720	11

ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 9 และรูปที่ 16

3.3.2 ผลของเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยา

หาเปอร์เซนต์การติดฉลากที่เวลาของปฏิกิริยาต่าง ๆ กัน คือ 0, 15, 35, 60, 90 , 120 และ 180 นาที ซึ่งเป็นเวลาตั้งแต่เริ่มรีฟลักซ์ไปจนถึงเวลา 3 ชั่วโมงของการรีฟลักซ์ โดยทำการทดลองตามวิธีการในข้อ 3.2.4 ใช้โมล Cu(II) ต่อโมล MIBG 0.5 H_2SO_4 = $5x10^{-3}$ (2mg MIBG 0.5 H_2SO_4, 28μl สารละลาย Cu(II) (0.272 mg/ml)) สารละลาย 0.1 M $NH_4H_2PO_4$ 100 μl และ NaI-131 5 mCi/50 μl

ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 10 และรูปที่ 17

3.3.3 ผลของ pH ของปฏิกิริยา

หาเปอร์เซนต์การติดฉลากของปฏิกิริยาที่ pH ต่าง ๆ กันคือ pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 โดยทำการทดลองตามวิธีการในข้อ 3.2.4 ใช้โมล Cu(II) ต่อโมล MIBG 0.5 H_2SO_4 = $20x10^{-3}$ (1 mg MIBG 0.5 H_2SO_4, 50 μl สารละลาย Cu(II) (0.379 mg/ml)) NaI-131 = 2.5 mCi/25 μl และปรับ pH ด้วยสารละลาย 0.1 M $NH_4H_2PO_4$ แล้วปรับปริมาตรของแต่ละปฏิกิริยาให้เท่ากันโดยการเติมน้ำกลั่นดังนี้

pH	ปริมาตรของ 0.1 M $NH_4H_2PO_4$ (μl)	ปริมาตรน้ำกลั่น (μl)
3	200	0
4	100	100
5	50	150
6	20	180
7	10	190
8	0	200

ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 11 และรูปที่ 18

3.4 การเตรียมสารประกอบติดฉลาก I-131 MIBG ในรูปของยาฉีด

ในขั้นนี้เป็นการทำสารประกอบติดฉลาก I-131 MIBG ให้มีความบริสุทธิ์ทั้งทางเคมีและทางชีววิทยา เพื่อให้ได้คุณภาพมาตรฐานตามเภสัชตำรับในการนำมาใช้เป็นยาฉีดต่อไป

อุปกรณ์

- สารเคมีที่ใช้เตรียมสารประกอบติดฉลาก I-131 MIBG เช่นเดียวกับข้อ 3.2.4
- กรดไฮโดรคลอริก 37% A.R grade, Merck
- Anion-exchange resin ขนาด 100-200 mesh (Dowex-1, 1X8-200, chloride form), Sigma
- ใยแก้ว (glass wool)
- กระดาษพีเอช (pH paper)
- กระบอกฉีดยาพลาสติก (disposable syringe) ขนาด 2.5 ml
- เข็มฉีดยา (disposable needle) เบอร์ 26 G x 1.5"
- เยื่อกรองมิลลิพอร์ (millipore membrane filter) ขนาด 0.22 ไมครอน
- ขวดยาฉีดปราศจากเชื้อ (sterile vial) ขนาด 10 ml
- น้ำเกลือ 0.9% ขององค์การเภสัชกรรม
- น้ำกลั่นสำหรับยาฉีด ขององค์การเภสัชกรรม
- เครื่อง autoclave model SD-30 ND ของ TOMY SEIKO, Japan

วิธีเตรียมคอลัมน์

แช่เรซินในสารละลาย 4 M HCl เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เทกรดทิ้ง แล้วล้างเรซินด้วยน้ำกลั่นจนน้ำล้างมี pH เท่ากับน้ำกลั่น (ตรวจสอบโดยใช้กระดาษพีเอช) แบ่งเรซินใส่ขวดยาฉีด ปิดจุกนำไปอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง เพื่อฆ่าเชื้อโรค แล้วบรรจุเรซินลงในกระบอกฉีดยาพลาสติกขนาด 2.5 ml ที่รองชั้นล่างด้วยใยแก้ว โดยบรรจุเรซินให้มีความสูงประมาณ 1.0-1.5 ml

วิธีเตรียม I-131 MIBG ในรูปของยาฉีด

เตรียม I-131 MIBG ตามวิธีการในข้อ 3.2.4 แบ่งส่วนหนึ่งมาหาเปอร์เซนต์การติดฉลาก ตามวิธีการในข้อ 3.2.5 และคำนวณค่า specific activity (*) ส่วนสารละลายที่เหลือนำไปทำให้บริสุทธิ์เนื่องจากมีไอโอดีน-131 ส่วนที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยาหรือส่วนที่เกินพอเหลืออยู่ โดยการนำไปผ่านคอลัมน์ที่เตรียมไว้แล้วล้างคอลัมน์ด้วย 0.9% น้ำเกลือ หรือสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 แล้วจึงนำสารละลายที่ได้มาผ่านเยื่อกรองมิลลิพอร์ 0.22 ไมครอน เพื่อทำให้ปราศจากเชื้อก่อนบรรจุลงในขวดยาฉีดปราศจากเชื้อ แล้วนำไปควบคุมคุณภาพทางเคมีและชีววิทยา

(*) การหาค่า specific activity ของสารประกอบติดฉลาก

ค่า specific activity หมายถึง ปริมาณกัมมันตรังสีต่อหน่วยน้ำหนักของสารประกอบนั้น คำนวณจากค่าเปอร์เซนต์การติดฉลาก

ถ้า X เป็นค่าเปอร์เซนต์การติดฉลาก

Y mCi เป็นค่าความแรงรังสีของ ^{131}I ที่ใช้ทั้งหมด

Z mg เป็นน้ำหนักของ MIBG 0.5 H_2SO_4 ที่ใช้

$$\text{specific activity ของ I-131 MIBG} = \frac{(X/100) \times Y}{Z} \quad \text{mCi/mg}$$

3.5 การควบคุมคุณภาพของสารเภสัชรังสี I-131 MIBG

ประกอบด้วยการควบคุมคุณภาพทางเคมีและชีววิทยา

3.5.1 การควบคุมคุณภาพทางเคมี

อุปกรณ์

- เครื่องวิเคราะห์สัญญาณแบบหลายช่อง (Multichannel analyzer, MCA) model 5000 ของบริษัท Norland Ino-tech, USA พร้อมด้วยหัววัดโซเดียมไอโอไดด์ (NaI(Tl)) ของบริษัท EG & G Ortec, USA.
- เครื่องมือตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี เช่นเดียวกับการหาเปอร์เซนต์การติดฉลากในข้อ 3.2.5
- เครื่องวัดกัมมันตภาพรังสี Deluxe Isotope Calibrator (II) model 34-056 ของบริษัท Victoreen, USA

3.5.1.1 การตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางเรดิโอนิวไคลด์ (Radionuclidic purity)

โดยการดูแกมมาสเปคตรัมของไอโอดีน-131 ด้วยเครื่อง MCA โดยหยดสารละลาย I-131 MIBG ให้มีปริมาณรังสีประมาณ 20,000 cpm ลงบนกระดาษกรอง ทำให้แห้ง แล้วนำไปวัดหาแกมมาสเปคตรัม สเปคตรัมที่ได้ออกมาจะต้องเป็นของ ^{131}I เท่านั้น ซึ่งให้พลังงานหลักที่ 364 kev (82%)

3.5.1.2 การตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี (Radiochemical purity)

ใช้วิธีเปเปอร์อิเลคโตรฟอเรซิส ซึ่งอุปกรณ์และวิธีการตรวจสอบเหมือนกับการหาค่าเปอร์เซนต์การติดฉลากในข้อ 3.2.5 ทุกประการ โดยคำนวณหาเปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีตามสมการ (28)

$$\text{เปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี} = \frac{\text{ผลรวมของอัตรานับรังสีที่ตำแหน่งของI-131 MIBG} \times 100\%}{\text{ผลรวมของอัตรานับรังสีทั้งหมด}} \quad \ldots\ldots\ldots(28)$$

3.5.1.3 การตรวจสอบความเข้มข้นของกัมมันตรังสี (Radioactive concentration)

นำสารละลาย I-131 MIBG ที่ทราบปริมาตรแน่นอนไปวัดความแรงรังสีโดยใช้เครื่อง dose calibrator แล้วคำนวณหาความเข้มข้นของกัมมันตรังสีในหน่วย mCi/ml

3.5.1.4 การตรวจสอบ pH

ตรวจสอบโดยใช้กระดาษพีเอช

3.5.2 การควบคุมคุณภาพทางชีววิทยา

ในการทดลองนี้ได้ส่งตัวอย่างของ I-131 MIBG ให้ฝ่ายควบคุมคุณภาพกองผลิตไอโซโทป สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ ทำการตรวจสอบคุณภาพทางชีววิทยา ประกอบด้วย

3.5.2.1 การตรวจสอบความปราศจากเชื้อ (sterility) ใช้วิธีของ USP xx

3.5.2.2 การตรวจสอบไพโรเจน (pyrogen) ใช้วิธี LAL (Limulus Amoebocyte Lysate)

(วิธีการตรวจสอบทั้งสองอยู่ในภาคผนวก)

3.6 การศึกษาการกระจายตัวของสารเภสัชรังสีไปสู่อวัยวะเป้าหมาย (Biodistribution study)

การทดลองขั้นนี้เป็นเพียงการศึกษาขั้นต้นของการศึกษาการกระจายตัวของสารเภสัชรังสีไปสู่อวัยวะเป้าหมายเท่านั้น เพื่อให้ทราบว่าสารเภสัชรังสี I-131 MIBG ที่เตรียมขึ้นนี้มีการสะสมบริเวณอวัยวะต่าง ๆ หลังจากฉีดเข้าสู่ร่างกายมากน้อยเพียงใด และมีการสะสมบริเวณอวัยวะเป้าหมาย (ต่อมหมวกไต) แตกต่างกับอวัยวะใกล้เคียงหรือไม่อย่างไร เพื่อเป็นการประเมินผลขั้นต้นของสารเภสัชรังสี I-131 MIBG ที่เตรียมขึ้น

การศึกษาทำโดยทดลองฉีด I-131 MIBG ในหนู (mice) แล้วศึกษาการกระจายตัวของยาไปยังอวัยวะต่าง ๆ ในรูปของ %uptake/g ซึ่งค่านี้จะบอกให้ทราบว่าอวัยวะใดมีเปอร์เซ็นต์การสะสมของยาต่อหน่วยน้ำหนักมากที่สุด

อุปกรณ์

- สารเภสัชรังสี I-131 MIBG specific activity ประมาณ 2 mCi/mg เตรียมตามวิธีการในข้อ 3.4
- หนูเพศเมีย (Female mice) น้ำหนักประมาณ 23-26 กรัม จากศูนย์สัตว์ทดลอง ต.ศาลายา จ.นครปฐม
- กระบอกฉีดยาขนาด 1 ml พร้อมเข็ม
- กระบอกพลาสติกขนาดเล็กพร้อมฝาปิด สำหรับใส่อวัยวะหนู
- เครื่องชั่ง 5 ตำแหน่ง, Sartorius
- เครื่องวิเคราะห์สัญญาณแบบหลายช่อง (Multichannel analyzer, MCA) model 5,000 ของบริษัท Norland Ino-tech, USA ต่อกับหัววัดรังสีแบบโซเดียมไอโอไดด์ (NaI(Tl)) ของบริษัท EG & G Ortec, USA.

วิธีทดลอง

ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 ml ดูดสารเภสัชรังสี I-131 MIBG (ความเข้มข้น 0.1 mCi/ml) ประมาณ 0.2 ml ชั่งน้ำหนักของกระบอกฉีดยาทั้งหมดก่อนฉีดเป็นค่าน้ำหนักเริ่มต้น แล้วนำมาฉีดเข้าเส้นเลือดดำที่บริเวณหางหนู (intravenous injection) โดยใช้ dose ประมาณ 10 μCi/0.1 ml ชั่งน้ำหนักของกระบอกฉีดยาอีกครั้งเป็นน้ำหนักที่เหลือ นำค่าน้ำหนักที่เหลือมาหักออกจากค่าน้ำหนักเริ่มต้นจะได้เป็นน้ำหนักของ I-131 MIBG ที่ฉีดเข้าไป แล้วทำ standard เพื่อหาค่าอัตรานับรังสีของ I-131 MIBG ต่อน้ำหนัก โดยหยดสารละลาย I-131 MIBG ลงในกระบอกพลาสติกให้มีอัตรานับรังสี (count rate) ประมาณ 10,000 counts แล้วนำไปชั่งน้ำหนักให้เป็นน้ำหนักของ I-131 standard

หลังจากฉีดทิ้งไว้ 1 วัน ตัดอวัยวะภายในของหนูแยกใส่กระบอกพลาสติก ชั่งน้ำหนักของแต่ละอวัยวะ แล้วนำไปวัดอัตรานับรังสีด้วยเครื่อง MCA ซึ่งต่อกับหัววัดรังสีแบบ NaI(Tl) โดยเลือกช่วงพลังงานของไอโอดีน-131 (0.36 Mev) บันทึกไว้เป็นค่าอัตรานับรังสีของ I-131 MIBG ของแต่ละอวัยวะต่อกรัม แล้ววัดอัตรานับรังสีของ standard ที่ทราบน้ำหนัก นำมาคำนวณหาค่าอัตรานับรังสีของI-131 MIBG ต่อน้ำหนัก จากค่าที่ได้สามารถคำนวณหาอัตรานับรังสีของ I-131 MIBG ที่ฉีดเข้าไปได้ แล้วคำนวณหา %uptake/g ของแต่ละอวัยวะได้จากสมการ (29)

$$\%\text{uptake/g} = \frac{\text{อัตรานับรังสีของ I-131 MIBG ของแต่ละอวัยวะ/g} \times 100\ \%}{\text{อัตรานับรังสีของ I-131 MIBG ที่ฉีดเข้าไป}} \quad \ldots\ldots\ldots (29)$$

ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 13 และรูปที่ 20

3.6.1 การศึกษาการกระจายตัวของสารเภสัชรังสีที่ระยะเวลาต่าง ๆ ภายหลังการฉีด

เพื่อศึกษาว่าภายหลังการฉีดที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน มีแนวโน้มของการสะสมของสารรังสีที่อวัยวะต่าง ๆ อย่างไร โดยทำการทดลอง เช่นเดียวกับข้อ 3.6 แต่ใช้ระยะเวลาภายหลังการฉีดต่าง ๆ กัน คือ 3 ชั่วโมง , 1 วัน , 2 วัน และ 3 วัน โดยรายงานผลเป็นค่า %Recovered activity/g ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบระหว่างความแรงรังสีที่พบในอวัยวะใด ๆ กับความแรงรังสีที่สะสมอยู่ในร่างกายทั้งหมดในเวลานั้น ซึ่งคำนวณได้จากสมการ (30)

$$\%\text{Recovered activity/g} = \frac{\text{อัตรานับรังสีของ I-131 MIBG ของแต่ละอวัยวะ/g x100 \%}}{\text{อัตรานับรังสีของ I-131 MIBG ที่สะสมอยู่ในร่างกายหนูขณะนั้น}} \quad (30)$$

(หมายเหตุ : อัตรานับรังสีของ I-131 MIBG ที่สะสมอยู่ในร่างกายหนูขณะนั้น คำนวณจากผลรวมของอัตรานับรังสี I-131 MIBG ของแต่ละอวัยวะ รวมกับอัตรานับรังสีที่เหลืออยู่ในซากหนู)

ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 14 และรูปที่ 21

3.6.2 การเปรียบเทียบผลการกระจายตัวของสารเภสัชรังสีที่ผลิตขึ้นได้กับผลิตภัณฑ์ของต่างประเทศ

ในการศึกษาการกระจายตัวของ I-131 MIBG ไปยังอวัยวะต่าง ๆ ในสัตว์ทดลอง ส่วนใหญ่นิยมใช้ลิงและสุนัขเป็นสัตว์ทดลอง เนื่องจากต่อมหมวกไตซึ่งเป็นอวัยวะเป้าหมายมีขนาดเล็กมาก การใช้สัตว์ทดลองขนาดเล็ก เช่น หนู จะทำให้การศึกษาการกระจายตัวของสารเภสัชรังสีทำได้ยากกว่าการใช้สัตว์ใหญ่ ดังนั้นในการศึกษาการกระจายตัวของ I-131 MIBG ในหนู จึงไม่มีค่าที่บันทึกไว้เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบ จึงทำการทดลองขั้นนี้ขึ้นเพื่อเปรียบเทียบผลการกระจายตัวของสารเภสัชรังสีในรูปของ %uptake/g ที่อวัยวะต่าง ๆ ระหว่าง I-131 MIBG ที่ผลิตขึ้นได้ กับ I-131 MIBG ของ Australian Radioisotope (ARI) ประเทศออสเตรเลีย ซึ่งได้มาตรฐานตามเภสัชตำรับ

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.6 โดย I-131 MIBG ที่จะนำมาฉีดเปรียบเทียบมีคุณสมบัติตามตารางที่ 2 และทำการ block การสะสมไอโอดีน-131 ของต่อมไทรอยด์ ซึ่งเป็น critical organ โดยหยดสารละลาย Lugol (sat.KI) 3 หยด ลงในน้ำ 200 ml ให้หนูกินล่วงหน้าก่อนที่จะทำการฉีด 1 วัน แล้วจึงฉีด I-131 MIBG โดยใช้ dose ประมาณ 25 μCi/0.1 ml แล้วคำนวณหา %uptake/g ของแต่ละอวัยวะภายหลังการฉีด 1 วัน ตามสมการ (29)

ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 2 คุณสมบัติของ I-131 MIBG ที่นำมาใช้ฉีดเปรียบเทียบ

I-131 MIBG in isotonic phosphate buffer (1 % benzyl alcohol)	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2	
	ARI*	OAEP**	ARI	OAEP
Radioactive concentration (mCi/ml)	0.25	0.25	0.25	0.25
Radiochemical purity (%)	98.9	98.1	99.1	98.6
pH	5	5	7	7
Specific activity (mCi/mg)	< 0.05	1.74	< 0.05	0.125

* ARI : Australian Radioisotope

** OAEP : Office of Atomic Energy for Peace

3.7 การศึกษาอายุการใช้งานของสารเภสัชรังสี I-131 MIBG

เนื่องจากสารประกอบติดฉลากส่วนใหญ่ มักจะเกิดการสลาย (Self-radiation decomposition) ในระหว่างการเก็บ ให้สารเจือปนซึ่งเป็นไอโซโทปรังสี ทำให้เปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีลดลง สาเหตุของการสลายตัวนี้ส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับช่วงระยะเวลาของการเก็บและอุณหภูมิเป็นต้น

การทดลองขั้นนี้จึงเป็นการศึกษาว่าสารเภสัชรังสีที่เตรียมขึ้นนี้ มีอายุการใช้งานนานเท่าใด โดยดูจากค่าเปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี หลังจากเก็บไว้ที่ระยะเวลา และสภาวะต่าง ๆ กัน ซึ่งทางเภสัชต่ำรับระบุว่าจะต้องมีค่ามากกว่า 95% การศึกษาจะศึกษาผลของสาร preservative ซึ่งป้องกันการเกิด radiolysis และผลของอุณหภูมิที่เก็บรักษาที่มีต่อความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีของยาฉีดที่ระยะเวลาต่าง ๆ ของการเก็บรักษาโดยเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างต่อไปนี้

ก. I-131 MIBG ใน 0.9% normal saline เก็บที่อุณหภูมิห้อง

ข. I-131 MIBG ใน 0.9% normal saline เก็บที่อุณหภูมิ 4°C

ค. I-131 MIBG ใน 0.9% normal saline + 1 % benzyl alcohol เก็บที่อุณหภูมิห้อง

ง. I-131 MIBG ใน 0.9% normal saline + 1 % benzyl alcohol เก็บที่อุณหภูมิ 4°C

อุปกรณ์

- อุปกรณ์ที่ใช้เตรียมสารเภสัชรังสี I-131 MIBG เช่นเดียวกับข้อ 3.4
- เบนซิลอัลกอฮอล์ (benzyl alcohol) A.R. grade, J.T.Baker
- ขวดยาฉีดสีน้ำตาลปราศจากเชื้อ ขนาด 10 ml
- ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 4°C

วิธีทดลอง

เตรียมสารเภสัชรังสี I-131 MIBG ตามวิธีการในข้อ 3.4 ให้มี specific activity ประมาณ 2 mCi/mg ความเข้มข้นประมาณ 0.5 mCi/ml แล้วหาเปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี บันทึกไว้เป็นค่าเริ่มต้น แล้วแบ่ง I-131 MIBG ออกเป็น 4 ตัวอย่าง คือ ก, ข, ค และ ง โดยเติม benzyl alcohol 1% v/v ลงในตัวอย่าง ค และ ง เก็บตัวอย่างทั้ง 4 ในขวดสีน้ำตาลปราศจากเชื้อในถ้ำตะกั่ว โดยนำตัวอย่าง ก และ ค ไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง ส่วนตัวอย่าง ข และ ง เก็บที่อุณหภูมิ 4°C หลังจากนั้นนำแต่ละตัวอย่างออกมาหาเปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสี ที่เวลาต่าง ๆ ตามวิธีการในข้อ 3.5.1.2

ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 17 และรูปที่ 23