

อภิปรายสรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายสรุปผลการทดลอง

5.1.1 การเตรียม Bisimine

จุดหลอมเหลวและปริมาณ C,H,N ที่หาได้มีค่าใกล้เคียงกับเอกสารอ้างอิง จากสเปกตรัมของ IR ให้ค่าการดูดกลืนที่ 3260 (-OH) และ 1640 (-N=C, C=NOH) cm^{-1}

ผลการเตรียม Bisimine ด้วยวิธีทั้งสาม พบว่าวิธีที่ 1 และวิธีที่ 3 ให้ % yield สูงเป็นที่น่าพอใจ แต่วิธีที่ 3 ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาสั้นกว่าวิธีที่ 1 สามารถเตรียมให้แล้วเสร็จได้ภายใน 1 วัน ผลิตภัณฑ์มีลักษณะขาวสะอาด ทำให้บริสุทธิ์ได้ง่ายกว่าวิธีที่ 1

5.1.2 การเตรียมลิแกนด์เฮกซะเมทิลโพรไพลีนเอมีนออกซิม

จุดหลอมเหลวและปริมาณ C,H,N ที่หาได้ใกล้เคียงกับค่าจากเอกสารอ้างอิง สเปกตรัมของ IR ให้ค่าการดูดกลืนที่ 3310 (-OH), 3219, 3100 (OH, NH) cm^{-1}

ตารางที่ 5.1 ^1H NMR Spectra

Chemical shift	Assignment
0.7748	$(\text{CH}_3)_2-\text{C}_8$ (d,l-)
1.0690	$\text{CH}_3-\text{C}_3+\text{CH}_3-\text{C}_8$ (d,l-)
1.6437	$\text{CH}_3-\text{C}_2+\text{CH}_3-\text{C}_{10}$
2.1112	H's at C5+C7
3.1235	H's at C3+C9
3.3000	NH's
10.2495	Oxime OH's
10.2511	

ตารางที่ 5.2 ^{13}C NMR Spectra

Chemical shift (ppm)	Assignment
6.6270	$\text{CH}_3-\text{C}_2 + \text{CH}_3-\text{C}_{10}$
17.5571	$\text{CH}_3-\text{C}_3 + \text{CH}_3-\text{C}_8$ (d,l)
22.7539	CH_3-C_8 (d,l)
37.9247	C_8 (d,l)
54.7184	$\text{C}_5 + \text{C}_7$ (d,l)
59.6508	$\text{C}_3 + \text{C}_9$ (d,l)
156.7018	$\text{C}_2 + \text{C}_{10}$ (d,l)

การเตรียมผลิตภัณฑ์เอ็กซะเมทิลโพรไพลีนเอมีนออกซิมด้วยวิธีนี้จะได้ meso form เป็นส่วนใหญ่ แต่รูปที่มีประโยชน์สามารถนำไปใช้ในการแพทย์คือ d,l form ซึ่งในปฏิกิริยานี้เป็นเพียง minor product เท่านั้น yield ที่ได้ค่อนข้าง

ต่ำ และเนื่องจากไอโซเมอร์ทั้งสองมีความสามารถในการละลายใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นการที่จะแยกสารบริสุทธิ์ทั้งสองออกจากกัน โดยวิธีการตกผลึกลำดับส่วนจึงทำได้ยาก ต้องทำการตกผลึกซ้ำหลาย ๆ ครั้งเพื่อให้ได้สารที่บริสุทธิ์ที่สุดเท่าที่จะทำได้ ทำให้มีการสูญเสียผลิตภัณฑ์ไปในขั้นตอนดังกล่าวค่อนข้างมาก

5.1.3 การเตรียมสารประกอบสำเร็จรูป d,l-HMPAO

5.1.3.1 ปริมาณตัวรีดิวซ์ที่เหมาะสมในการเตรียมสารประกอบสำเร็จรูป HMPAO

เปรียบเทียบผลการทดลองของทั้งสองระบบ

ระบบที่ 1 metallic Sn เป็นตัวรีดิวซ์

ระบบที่ 2 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เป็นตัวรีดิวซ์

พบว่าเมื่อใช้ปริมาณตัวรีดิวซ์ต่ำ ๆ จะมี $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ อิสระเหลืออยู่มาก (> 1 %) ในขณะที่เมื่อเพิ่มปริมาณตัวรีดิวซ์ให้มากขึ้น ผลปรากฏว่าปริมาณ $\text{HR-}^{99\text{m}}\text{Tc}$ และ 2^{nd} complex จะเพิ่มสูงขึ้นเช่นเดียวกัน ซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนในระบบที่มี $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เป็นตัวรีดิวซ์

จากการศึกษาพบว่า ระบบที่ 1 ปริมาณ metallic Sn ที่เติมลงไปแล้วทำให้ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีมากกว่า 85 % อยู่ในช่วง 4.0-19.0 μg ส่วนใน ระบบที่ 2 ปริมาณ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่เติมลงไปแล้วทำให้ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีมากกว่า 85 % อยู่ในช่วง 5.0-10.0 μg

5.1.3.2 pH ที่เหมาะสมในการเตรียมสารประกอบสำเร็จรูป HMPAO

พบว่าที่ pH ต่ำ ๆ จะเกิด $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ อิสระสูงมากมีผลทำให้ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีต่ำ แต่เมื่อเพิ่ม pH ให้สูงขึ้นความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีก็จะค่อย ๆ สูงเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน จนกระทั่งที่ $\text{pH} > 8$ ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีจะเพิ่มขึ้นถึง > 80 % และให้ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีสูงที่สุดที่ pH 10.0 (> 90 %) และลดต่ำลงอีกครั้งเมื่อ $\text{pH} > 11$ (71 %) ที่ pH 10.0 ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีที่เวลา 30 นาทีหลังการติดฉลากยังคง > 80 %

สรุปผลจากการทดลอง pH ที่ทำให้ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีของ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -d,l-HMPAO > 85 % อยู่ในช่วง pH 9.0-10.0

5.1.4 เสถียรภาพของสารประกอบเชิงซ้อน $^{99m}\text{Tc-d,l-HMPAO}$

พบว่าในระบบที่ใช้ตัวรีดิวซ์ชนิดเดียวกัน ปริมาณตัวรีดิวซ์ที่มากกว่าจะมีความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีสูงกว่าในช่วงเวลาเดียวกัน แสดงว่าสารประกอบเชิงซ้อนมีเสถียรภาพดีกว่า ส่วนระบบที่ใช้ตัวรีดิวซ์ต่างกัน ระบบที่ใช้ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เป็นตัวรีดิวซ์จะมีเสถียรภาพดีกว่า

ตารางที่ 5.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่าง ๆ ของระบบทั้ง 4 ในช่วงเวลา 5-60 นาทีหลังการติดฉลาก

องค์ประกอบต่างๆ	เวลา 5-60 นาทีหลังการติดฉลาก			
	ระบบที่ 1	ระบบที่ 2	ระบบที่ 3	ระบบที่ 4
	$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5.0 μg	$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10.0 μg	metallic Sn 4.0 μg	metallic Sn 19.0 μg
$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0.26-2.81	0.48-0.65	0.18-0.29	0.27-2.08
HR- ^{99m}Tc	0.92-3.00	0.43-2.50	2.88-4.62	4.16-6.14
2 nd complex	5.43-14.36	5.52-10.25	8.92-16.59	2.54-10.94
1 st complex	93.39-80.56	93.09-86.60	88.53-78.50	93.03-80.84

เมื่อเปรียบเทียบผลของทั้ง 4 ระบบ จะเห็นได้ระบบที่ 2 ให้ผลดีที่สุดโดยความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสียังคง $> 85\%$ หลังการติดฉลาก 1 ชั่วโมง ในขณะที่ระบบอื่นมีความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีลดลงเหลือ $< 85\%$ ในช่วงเวลาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า สารประกอบเชิงซ้อน $^{99m}\text{Tc-d,l-HMPAO}$ ในระบบที่ 2 มีเสถียรภาพสูงที่สุด

จากผลการทดลอง (5.1.3.1, 5.1.3.2 และ 5.1.4) จึงเลือกส่วนประกอบที่คิดว่าเหมาะสมที่สุด เพื่อนำมาเตรียมสารประกอบสำเร็จรูปชนิดผงดังวิธีข้างต้นดังนี้

ใน 1 ชุดประกอบด้วย

ลิแกนด์ d,l HMPAO	0.5	mg
NaCl	4.5	mg
$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	10.0	μg
pH	9.0-10.0	

5.1.5 ปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการติดฉลากสารประกอบสำเร็จรูป HMPAO ชนิดผง พบว่าที่ความแรงรังสีต่ำ ๆ (< 25 mCi) จะมี $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ อิสระต่ำ แต่มี HR- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ และ 2^{nd} complex ค่อนข้างสูง อธิบายได้ว่าที่ความแรงรังสีระดับนี้ Sn^{2+} ที่มีอยู่ในระบบสามารถรีดิวซ์ Tc(VII) ที่เติมลงไปให้เป็น Tc(V) ได้ทั้งหมด แต่ยังคงมี Sn^{2+} บางส่วนที่ไม่ได้เข้าทำปฏิกิริยาเหลืออยู่ในระบบ Sn^{2+} ที่เหลือจึงไปเร่งให้เกิด HR- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ และ 2^{nd} complex เพิ่มมากขึ้นดังกล่าว

ในขณะที่ความแรงรังสีสูง ๆ (> 45 mCi) จะมี $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ อิสระเหลืออยู่มากกว่า แสดงว่าตัวรีดิวซ์ที่มีอยู่ในระบบไม่สามารถรีดิวซ์ Tc(VII) ที่มีอยู่ให้เป็น Tc(V) ได้ทั้งหมดแต่สารมลทินตัวอื่น ๆ ยังคงค่อนข้างต่ำ ทำให้ปริมาณ 1^{st} complex ลดลงเล็กน้อย แต่ยังคง > 85 %

สรุป เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองของทั้ง 4 ระบบแล้ว พบว่าปริมาณรังสีที่นำมาติดฉลากกับสารประกอบสำเร็จรูป d,l-HMPAO ชนิดผงที่เตรียมขึ้นแล้วความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสียังคง > 85 % (หลังการติดฉลาก 5 นาที) และมีปริมาณสารมลทินทางเคมีรังสีอื่น ๆ ต่ำ เป็นที่น่าพอใจ อยู่ในช่วงความแรงรังสี 25-35 มิลลิคูรี/ 5 มิลลิลิตร

5.1.6 การกระจายตัวของสารประกอบเชิงซ้อน $^{99\text{m}}\text{Tc-d,l-HMPAO}$ ในหนู

เมื่อผ่านการทดสอบความบริสุทธิ์ทางชีวภาพแล้ว จึงนำมาฉีดเข้าในหนู เพื่อศึกษาลักษณะการกระจายตัวของสารติดฉลากในอวัยวะต่าง ๆ

เปรียบเทียบผลการกระจายตัวของสารประกอบเชิงซ้อน $^{99\text{m}}\text{Tc-d,l-HMPAO}$ ที่เตรียมขึ้นกับสารของ Amersham โดยเปรียบเทียบกับค่าจากเอกสารอ้างอิง (24) พบว่าลักษณะการสะสมของสารประกอบเชิงซ้อน $^{99\text{m}}\text{Tc-d,l-HMPAO}$ ที่อวัยวะต่าง ๆ มีแนวโน้มและค่าใกล้เคียงกัน โดยในช่วง 20 นาทีแรกหลังการฉีด ปริมาณการสะสมในเลือดจะค่อนข้างสูง (17 และ 20 % ในสารที่เตรียมขึ้นและของ Amersham

ตามลำดับ) และค่อย ๆ ลดลงหลังการฉีด 1 ชั่วโมง (13-18 % ในสารที่เตรียมและของ Amersham ตามลำดับ) การสะสมในสมองมีค่าใกล้เคียงกันมาก โดยมีการสะสมของสารที่เตรียมกับสารของ Amersham ที่ 20 และ 1 ชั่วโมงหลังการฉีด 2.41, 2.46 และ 1.90, 1.93 % ตามลำดับ จะเห็นว่าปริมาณการสะสมในสมองไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงมากนักในช่วงเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณการสะสมในเลือด จากผลที่ได้เมื่อหาอัตราส่วนการสะสมในสมอง/เลือดของสารที่เตรียมและสารของ Amersham พบว่าสารที่เตรียมมีอัตราส่วนดังกล่าวสูงกว่าของ Amersham เล็กน้อย คือ 0.14 และ 0.12 ตามลำดับ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า สารที่เตรียมได้สามารถนำไปใช้ถ่ายภาพสมองได้โดยที่คุณภาพของภาพที่ได้ดีเทียบเท่าหรืออาจดีกว่าของ Amersham เล็กน้อยในช่วงเวลาเดียวกัน และคุณภาพของภาพจะดียิ่งกว่าถ้ารอเวลาไว้ให้นานกว่า 1 ชั่วโมงจึงทำการถ่ายภาพ เพื่อรอให้ปริมาณการสะสมของสารรังสีที่บริเวณ soft tissue อื่น ๆ ภายในสมองลดต่ำลง จะทำให้เห็นภาพสมองได้ชัดเจนยิ่งขึ้น การขจัดออกจากร่างกายจะทำการขจัดออกทางระบบ GI และกระเพาะปัสสาวะเป็นส่วนใหญ่ การขับออกจากเลือดทำได้ภายในเวลา 1 ชั่วโมง สำหรับอวัยวะอื่น ๆ อัตราการขับออกจะแตกต่างกันตามแต่ชนิดและการทำหน้าที่ของอวัยวะนั้น ๆ

5.1.7 เสถียรภาพของสารประกอบสำเร็จรูป d, l-HMPAO ชนิดผง

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในช่วงแรก ๆ ยังคงมีปริมาณ Sn^{2+} อยู่สูง เมื่อนำมาติดจลาจกับสารละลายเปอร์เทคนิคีเตจึงมีผลทำให้เกิด 2^{nd} complex ค่อนข้างสูง ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีจึงต่ำลงเล็กน้อยแต่ยังคง $> 85\%$ หลังจากนั้นปริมาณ Sn^{2+} จะค่อย ๆ ลดลงตามลำดับ จะเห็นได้จากมีปริมาณ $\text{HR-}^{99m}\text{Tc}$ และ 2^{nd} complex ลดต่ำลงดังกล่าว จนถึงวันที่ 15 ของการเก็บ ปริมาณสารมลทินทางเคมีรังสีอื่น ๆ จะมีน้อยมากแต่มี $^{99m}\text{TcO}_4^-$ เพิ่มขึ้นเล็กน้อย เป็นผลทำให้ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีมีค่าสูงสุด หลังจากนั้นปริมาณ $^{99m}\text{TcO}_4^-$ จะเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บ (24.74 % ในวันที่ 18 ของการเก็บ) แสดงว่าปริมาณตัวรังสีที่มีเหลืออยู่น้อยกว่าเดิมมากจนไม่สามารถวัดรังสีที่เท่ากันได้หมด

สรุปว่า สารประกอบสำเร็จรูป d, l-HMPAO ชนิดผงที่เตรียมมีเสถียรภาพสามารถเก็บไว้ใช้ได้นานประมาณ 16 วัน

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การเตรียมลิแกนด์เฮกซะเมทิลโพรโพลีนเอมีนออกซิม(HMPAO)

การเตรียมลิแกนด์นี้ อาจปรับปรุงให้ % yield สูงขึ้นได้โดยรักษาสภาพอุณหภูมิในขณะทำการรีดิวซ์ด้วย NaBH_4 ให้ต่ำที่สุดเท่าที่จะทำได้ และค่อย ๆ เติมตัวรีดิวซ์อย่างช้าๆ เพื่อไม่ให้อุณหภูมิเปลี่ยนแปลงมากนัก เพราะถ้าอุณหภูมิของสารละลายสูงมากกว่า 5°C จะทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่าง ethanol ที่ใช้เป็นตัวทำละลายกับ NaBH_4 ได้ ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดการรีดิวซ์ไม่สมบูรณ์ จะทำให้มี Bisimine เหลืออยู่ในระบบมากกว่าปกติ ทำให้มีความยุ่งยากมากขึ้นในการทำสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ให้บริสุทธิ์ ดังนั้นควรรักษาอุณหภูมิในขณะทำการรีดิวซ์ให้ต่ำที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ อาจทำได้ไม่ถนัดนักในสภาพอากาศแบบประเทศไทย

วิธีแยกสารไอโซเมอร์ทั้งสองออกจากกันให้บริสุทธิ์ที่สุด ทำได้โดยการแยกด้วย Preparative HPLC แต่ในปัจจุบันนี้ใช้ไม่แพร่หลาย ถ้ามีชุดเครื่องมือนี้ใช้การแยกสารบริสุทธิ์ของ HMPAO จะทำได้ง่ายขึ้น สารผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความบริสุทธิ์สูงกว่าวิธีตกผลึกลำดับส่วนมาก

5.2.2 การเตรียมสารประกอบสำเร็จรูป d,l-HMPAO

จากการศึกษาพบว่า สารประกอบสำเร็จรูปที่เตรียมขึ้น มีเสถียรภาพไม่มากนัก การที่จะพัฒนานำไปใช้ในงานประจำต่อไป จำเป็นจะต้องปรับปรุงวิธีการเตรียมให้ดียิ่งขึ้น โดยอาจเติมสารที่เป็น antioxidant หรือ stabilizer ที่เหมาะสมลงไปในปริมาณที่เหมาะสม เพื่อช่วยยืดอายุการใช้งานให้นานยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นสิ่งที่ท้าทายความสามารถของนักวิจัยในหน่วยงานด้านเวชศาสตร์นิวเคลียร์เป็นอย่างยิ่ง ถ้าทำได้จะเป็นการพัฒนาเวชศาสตร์นิวเคลียร์ไปในอีกระดับหนึ่ง จะเป็นประโยชน์อย่างมาก

5.2.3 การติดตามสารประกอบสำเร็จรูป d,l HMPAO ด้วย Tc-99m

ถ้าเป็นไปได้ควรเตรียมใน ethanolic media เพราะจากการวิเคราะห์แล้วพบว่าเสถียรภาพของสารประกอบเชิงซ้อน $^{99\text{m}}\text{Tc-d,l-HMPAO}$ จะดีกว่าใน aqueous media หรืออาจเติม gentisic acid ลงไปในปริมาณที่เหมาะสมหลังการติดตาม จากการศึกษพบว่าสามารถช่วยยืดอายุการใช้งานของสารติดตามให้ใช้ได้ยาวนานขึ้น โดยที่ลักษณะการกระจายตัวของสารในสมองและอวัยวะต่าง ๆ ยังคงไม่เปลี่ยนแปลง และเสถียรภาพของ $^{99\text{m}}\text{Tc-d,l-HMPAO}$ ดีกว่าเดิมมาก(40)