

การพัฒนา ^{188}Re -HEDP เพื่อใช้เป็นยาบรรเทา

อาการปวดกระดูกจากการแพร่กระจายของมะเร็ง

วิราณี ศรีเวียง^{1*} นภรัตน์ มินสาคร² สุตคนึง พุ่มเข็ม² บุญอุมา ชาวอุทธี²

ภัทรารณณ์ ทองโสภ² และจตุพล แสงสุริยัน²

¹ฝ่ายวิจัยและพัฒนานิวเคลียร์ ²ศูนย์ไอโซโทปปรังสี สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ

16 ถ.วิภาวดีรังสิต แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กทม. 10900 e-mail : wiranee@oalp.go.th

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการติดฉลาก HEDP ด้วย Re-188 ก่อนที่จะเตรียมเป็นชุดตรวจสอบ (Kit) พบว่า HEDP สามารถติดฉลากได้ดีโดยใช้สภาวะดังต่อไปนี้ HEDP 10 มิลลิกรัม, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 3 มิลลิกรัม, Gentic acid 4 มิลลิกรัม, NH_4ReO_4 50 ไมโครกรัม และ 3-10 มิลลิคูรี $^{188}\text{ReO}_4^-$ ที่ pH = 1 หลังจากนั้นจึงทำการปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 5 – 6 ด้วย 0.3 M pH 12 NaOAc ตรวจสอบคุณภาพหาร้อยละการติดฉลากด้วยวิธี TLC ได้เปอร์เซ็นต์การติดฉลากสูงสุดถึง 98.88% หลังจากนั้นนำมาเตรียมในรูปของ Kit แล้วตรวจสอบคุณภาพหลังการติดฉลากด้วย ^{188}Re พบว่า HEDP Kit ให้ผลการติดฉลากเกิน 94% ตลอดระยะเวลาที่เก็บไว้นาน 5 เดือน ทดสอบการกระจายตัว ^{188}Re -HEDP ในหนู พบว่ามีค่า % Injected dose/g ที่กระดูก 1.372% , 1.302% , 1.154% ที่ 2, 4 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ และจากการทำภาพถ่ายรังสีของ ^{188}Re -HEDP ในหนูที่ 24 ชั่วโมง พบว่าให้ผลที่สอดคล้องกัน

คำสำคัญ : รีเนียม-188, สารติดฉลาก

Development of ^{188}Re -HEDP as radiopharmaceutical for palliative bone pain

W. SRIWIANG^{*1}, N. MINSAKORN², S. PHUMKHEM², B. CHAOWARIT²,

P. THONGSOPHA² and J. SANGSURIYAN²

¹Research and Development Section, ²Isotope Center, Thailand Institution of Nuclear Technology

16 Vibhavadi Rangsit Rd., Chatuchak, Bangkok, 10900. THAILAND, e-mail : wiranee@oalp.go.th

Abstract

The optimized condition for labeling HEDP with Re-188 was assessed by wet labeling. The mixture solution of 10 mg HEDP, 3 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4 mg Gentic acid and 50 μg of NH_4ReO_4 was labeled with 3- 10 mCi ReO_4^- at pH1 with heating temperature at 100 $^\circ\text{C}$ for 15 minutes. After adjusting pH to 5-6 with 0.3 M NaOAc pH 8 and NaOH, radiochemical purity of the labeled product was checked by TLC. Labeling efficiency was high as 98.88%. The HEDP ligand was prepared in form of lyophilized kits then labeled and controlled for labeling efficiency. Labeling yield of labeled HEDP kits were more than 94% for 5 months storage. Biodistribution of ^{188}Re -HEDP in rat measured in % injected dose/g of bone at time 2, 4 and 24 hours was 1.372%, 1.302% and 1.154%, respectively.

Key word : ^{188}Re -HEDP, radiolabeling, ligand

บทนำ

เนื่องจากผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งในระยะสุดท้ายจะมีอาการปวดกระดูกจากการแพร่กระจายของมะเร็ง ซึ่งทางการแพทย์ได้พยายามหาวิธีการและพัฒนากรรมวิธีบำบัดรักษาเพื่อบรรเทาอาการปวดนี้ เพื่อให้ผู้ป่วยมีโอกาสมีชีวิตอยู่นานขึ้นและช่วยให้มีคุณภาพชีวิตในช่วงสุดท้ายที่ดีขึ้น ในปัจจุบันการรักษามะเร็งที่แพร่กระจายมาที่กระดูกที่อาการของโรคไม่รุนแรงมากมักจะรักษาด้วยยาแก้ปวด การรักษาด้วยฮอร์โมน (hormonotherapy agent), การรักษาด้วยเคมีบำบัด (chemotherapy) หรือการฉายรังสี (external beam radiation) เป็นต้น ซึ่งวิธีเหล่านี้ล้วนแต่มีข้อจำกัดบางประการ[1]

ในปัจจุบันได้มีการคิดค้นที่จะนำสารเภสัชรังสีมาใช้ในการรักษามะเร็ง จากหลักการที่ว่า สารเภสัชรังสีจะไปจับเฉพาะบริเวณที่เป็นเนื้อร้าย หรือไปจับยังเนื้อร้ายในปริมาณที่มากกว่าเนื้อเยื่อปกติ ซึ่งในการเลือกสารรังสี (radionuclide) และสารประกอบเคมีติดตามกระดูก (bone seeking agent) ที่มีความเหมาะสมในการนำไปใช้เป็นเภสัชรังสีติดตามกระดูก เพื่อใช้ในการรักษามะเร็งนั้น จะต้องคำนึงถึงเวลาครึ่งชีวิต (half-life) ของสารกัมมันตรังสีที่ควรจะสัมพันธ์กับเวลาที่สารนั้น uptake อยู่ในเนื้อมะเร็ง นอกจากนี้จะต้องคำนึงถึงขนาดและพลังงานของสารรังสีที่ใช้ตลอดจนราคาและความสะดวกในการผลิตหรือสั่งซื้อ

สารเภสัชรังสีที่นำมาใช้มีหลายชนิดดังแสดงในตารางที่ 1 [1] ชนิดแรกที่นำมาใช้คือ P-32 sodium phosphate ซึ่งพบว่าเมื่ออัตราส่วนการ uptake ใน tumor : nontumor ถึง 20:1 แต่มีผลแทรกซ้อนการทำงานของไขกระดูก จึงมีการเปลี่ยนมาใช้ strontium-89 chloride ถึงแม้ว่าจะเป็นที่ยอมรับของสถาบัน Food and Drug Administration (FDA, USA) แต่ Sr-89 มีครึ่งชีวิตนานและไม่มีรังสีแกมมาที่จะใช้ในการถ่ายภาพการกระจายตัวของสารเภสัชรังสี เช่นเดียวกับ P-32

ตารางที่ 1 สารเภสัชรังสีที่ใช้บรรเทาอาการปวดกระดูกเนื่องจากการแพร่กระจายของมะเร็ง

Radionuclide	Radiopharmaceutical	Half life	Max. β energy (Mev)	Photon , kev (%)
Sr-89	Chloride	50.5d	1.45	-
P-32	Orthophosphate	14.3d	1.71	-
Re-186	HEDP	90.6h	1.07	139 (9)
Sm-153	EDTMP	46.3h	0.80	103 (28)
Re-188	HEDP	16.9h	2.12	155 (15)

สารเภสัชรังสีอีก 2 ชนิดที่ได้รับการยอมรับและนำมาใช้ทางคลินิกแล้วคือ ¹⁸⁶Rhenium-1,1- hydroxyethylidene diphosphate (¹⁸⁶Re-HEDP) [2-4] และ ¹⁵³Samarium ethlenediaminetetramethylene phosphonic acid (¹⁵³Sm-EDTMP) [2] ซึ่งทั้งสองตัวนี้ให้รังสีเบตา

และแกมมาที่มีพลังงานพอเหมาะสำหรับการถ่ายภาพรังสี แต่ทั้ง Re-186 และ Sm-153 ยังมีข้อด้อยคือ ต้องเตรียมจากเครื่องปฏิกรณ์ปรมาณูที่มีกำลังสูง (high neutron flux) เพื่อจะให้ Re-186 หรือ Sm-153 ที่มี specific activity สูง ซึ่งเครื่องปฏิกรณ์ที่มีอยู่ไม่สามารถผลิต Re-186 หรือ Sm-153 ให้มี specific activity สูงๆ ได้

ในปัจจุบันไอโซโทปรังสีที่เหมาะสมคือ Re-188 ซึ่งเตรียมได้จาก $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ generator ในรูป carrier free ที่มีความแรงรังสีสูงในปริมาณน้อย [5] สามารถ elute ใช้ได้ทุกวัน และตัวเจเนเรเตอร์ก็มีอายุการใช้งานนาน 4-8 เดือน (ขึ้นกับขนาดของเจเนเรเตอร์) ทำให้มีการศึกษาการใช้ไอโซโทปรังสีนี้ในการบำบัดรักษาโรคมะเร็งแพร่หลายมากขึ้น เพราะคุณสมบัติที่เหมาะสมคือ มีพลังงานเบตาสูงและมีครึ่งชีวิตสั้นอีกทั้งคุณสมบัติทาง radiochemistry ก็คล้ายกับ Tc-99m และขณะนี้มียางานการวิจัยในการใช้ ^{188}Re -HEDP เป็นเภสัชรังสีในการบรรเทาอาการปวด ซึ่งให้ผลดีกว่า Sm-153 และ Re-186 เพราะพลังงานสูงกว่า แต่มีครึ่งชีวิตสั้นกว่าทำให้ใช้ dose ในการรักษาสูงกว่าได้และลดปัญหาในการจัดการกากกัมมันตรังสี นอกจากนี้ Re-188 ที่ได้จากเจเนเรเตอร์ ก็เหมาะสำหรับโรงพยาบาลในการเตรียม in-house radiopharmaceutical kit เช่นเดียวกับ Tc-99m สะดวกสำหรับใช้ในทางคลินิก (clinical use)

จากรายงานการวิจัยหลายเรื่อง [3-8] ซึ่งให้เห็นถึงประสิทธิภาพของ ^{188}Re -HEDP ในการใช้เป็นสารเภสัชรังสีบรรเทาอาการปวดเนื่องจากการแพร่กระจายของมะเร็งที่กระดูกได้ดี ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงเป็นการพัฒนาการเตรียม ^{188}Re -HEDP เพื่อใช้เองภายในประเทศ โดยการเตรียม HEDP kit คิดผลจาก Re-188 จากเจเนเรเตอร์ ทดสอบการกระจายตัวในสัตว์ทดลองและผลการถ่ายภาพรังสีในหนู Rat โดยต้องให้ผลที่ดีและผ่านมาตรฐานควบคุมคุณภาพทั้งทางด้านเคมีและชีววิทยา ก่อนที่จะทำการทดสอบทางคลินิกต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์

สารเคมีส่วนใหญ่ได้จากบริษัท Sigma, Aldrich, Fluka และ Merck โดยมีความบริสุทธิ์มากกว่า 97%

วิธีการ

1. วิธีการติดฉลาก HEDP ด้วย Re-188

การดำเนินการศึกษาทดลองในขั้นแรกใช้วิธีการติดฉลาก HEDP ด้วย ^{188}Re ($^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ Generator, Polatom) โดยตรง (direct labeling) ใช้ HEDP 10 mg/ml ละลายในน้ำ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 3 - 7 mg เป็น reducing agent ละลายใน 0.1 N HCl เติม NH_4ReO_4 0.05 - 0.1 mg เป็น carrier ใช้ gentisic acid 4 mg เป็น antioxidant ของปฏิกิริยา แล้วจึงเติม ReO_4^- ประมาณ 3 -

10 mCi ปริมาตรรวม 1–4 ml ต้มในน้ำเดือด 15 นาที ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับ pH ของสารละลายให้อยู่ระหว่าง 5–6 ด้วยการเติม 1 ml 0.3M NaOAc pH 8 จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาร้อยละการติดฉลากด้วยวิธี TLC

2. การวิเคราะห์หาร้อยละการติดฉลากด้วยวิธี TLC

ระบบ 1 : ใช้กระดาษ ITLC / solvent Acetone เพื่อที่จะแยก Free ReO_4^- (Rf=1) ออกจาก ^{188}Re - HEDP (Rf= 0)

ระบบ 2 : ใช้กระดาษ ITLC / solvent 0.9% NSS เพื่อที่จะแยก Rhenium reduced hydrolyzed (Rf=0) ออกจาก ^{188}Re - HEDP และ ReO_4^- (Rf= 1)

$$\% \text{ Labelling} = 100 - \% \text{ReO}_4^- - \% \text{Rhenium reduced hydrolyzed}$$

3. การศึกษาปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อการติดฉลาก

3.1 ปริมาณ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

ทำการติดฉลาก HEDP ด้วย Re-188 ตามข้อ 1 โดยใช้ HEDP 10 mg , gentisic acid 4 mg , NH_4ReO_4 50 μg และ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ปริมาณตั้งแต่ 3-7 mg Re-188 ~ 10 mCi ต้มในน้ำเดือด 15 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และทำให้สารละลายมี pH 5 – 6 ด้วย 0.3 M NaOAc นำตัวอย่างไปหาร้อยละการติดฉลาก

3.2 พีเอช

วิธีที่ 1. ปริมาณสารและวิธีการทำตามข้อ 3.1 ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4 mg) ยกเว้นก่อนการติดฉลาก ปรับ pH เป็น 5.5 ด้วย 0.3 M NaOH แล้วนำมาติดฉลาก Re-188 ~ 4 mCi ต้มในน้ำเดือด 15 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาร้อยละการติดฉลากด้วยวิธี TLC

วิธีที่ 2. ทำการติดฉลากตามข้อ 3.1 แต่ไม่ต้องปรับพีเอชเป็น 5.5 นำมาติดฉลากกับ Re-188 ~ 4 mCi ต้มในน้ำเดือด 15 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และทำให้สารละลายมี pH 5 – 6 ด้วย 0.3 M NaOAc นำตัวอย่างไปหาร้อยละการติดฉลาก

3.3 ปริมาตร Re-188

ทำการติดฉลากตามข้อ 3.1 คือใช้ ปริมาณสารเคมีและความแรงรังสีเท่ากันแต่ปรับปริมาตรรวมสุดท้ายเป็น 1 ml, 2 ml, 3 ml , และ 4 ml ตามลำดับ หลังจากต้มในน้ำเดือด ทิ้งให้เย็น ปรับพีเอชเรียบร้อยแล้ว จึงนำตัวอย่างไปหาร้อยละการติดฉลาก

3.4 การเติม carrier 2 ชนิด NH_4ReO_4 และ KReO_4

ทำการติดฉลาก HEDP ด้วย Re-188 ตามข้อ 3.1 โดยชุดที่หนึ่ง ใช้ NH_4ReO_4 50 μg , 70 μg และ 100 μg ส่วนอีกชุดหนึ่งใช้ KReO_4 แทน NH_4ReO_4 ที่ปริมาณเท่ากัน

4. การเตรียมสารประกอบสำเร็จรูปของ HEDP (Formulation of HEDP kit)

การเตรียมสารประกอบสำเร็จรูปของ HEDP เพื่อนำมาติดฉลากกับ Re-188 เพื่อสะดวกในการใช้งาน ในการศึกษาและทดลองได้เตรียม HEDP kit ดังนี้

Formulation

ละลาย HEDP แล้วเติม gentisic acid , NH_4ReO_4 และ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ โดยให้มีความเข้มข้นของสารต่อปริมาตรสารละลาย 1 ml ดังนี้ HEDP 10 mg , gentisic acid 4 mg , NH_4ReO_4 50 μg และ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4 mg ตรวจสอบ pH แล้วปรับให้ได้ pH 1 แบ่งตวงใส่ขวดยาฉีด (ขนาด 10 ml) ขวดละ 1 ml แล้วจึงนำไปทำแห้งด้วยวิธี Freeze dry เพื่อเก็บในสภาพ lyophilized HEDP kit พร้อมทั้งจะนำมาติดฉลากกับ Re-188 หลังจากผลิตเสร็จนำมาทดสอบคุณภาพผลการติดฉลากกับ Re -188 โดยใช้ Re-188 ประมาณ 10 mCi ต่อปริมาตร 2 ml ต้มในน้ำเดือด 15 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และทำให้สารละลายมี pH 5-6 ด้วย 0.3 M NaOAc นำตัวอย่างไปหาร้อยละการติดฉลาก โดยตรวจสอบผลการติดฉลากด้วยวิธี TLC หลังจากนั้นนำ HEDP kit มาทดสอบคุณภาพเป็นระยะๆ หลังจากวันผลิตเป็นเวลา 5 เดือน

5. ศึกษาการกระจายตัวของ Re-188 – HEDP ในสัตว์ทดลอง (Biodistribution of ^{188}Re - HEDP)

นำตัวอย่าง ^{188}Re - HEDP ที่ปรับ pH แล้วมาทดสอบการ uptake ที่ bone ในหนู Sprague - dawley Rat เพศผู้ ขนาด 150 –200 g กลุ่มละ 3 ตัวฉีดทางเส้นเลือดดำที่หาง (tail vein) หลังจากฉีดที่ 2 ชั่วโมง , 4 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง นำไปผ่า และนำอวัยวะต่างๆ ซั่งหาน้ำหนัก และวัด activity เพื่อคำนวณหาร้อยละการกระจายตัวของ ^{188}Re -HEDP ที่อวัยวะต่างๆ สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\%ID / g = \frac{\%ID / organ}{Organ weight (g)}$$

เมื่อ $\%ID / organ = \% \text{ injected dose per organ}$

$$\%ID / organ = \frac{Organ counts}{Total counts injected dose} \times 100$$

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. ผลการติดฉลาก HEDP ด้วย Re-188

1.1 ผลของปริมาณ reducing agent ต่อร้อยละการติดฉลาก

การติดฉลาก ^{188}Re เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม พบว่าเมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณของ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ตั้งแต่ 3mg ถึง 7mg พบว่าปริมาณ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่เหมาะสมให้ร้อยละการติดฉลากสูงโดยที่สีของ ^{188}Re -HEDP ยังคงเป็นสารละลายใสสีเหลืองอ่อน คือ 3 mg

ตารางที่ 2 ร้อยละการติดฉลาก ^{188}Re -HEDP โดยใช้ reducing agent 3 – 7 mg

$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	3mg	4mg	5mg	6mg	7mg
%Labelling	90.67	87.30	89.47	88.23	89.19

1.2 ผลของ pH ต่อร้อยละการติดฉลาก

จากผลการทดลองพบว่าถ้าทำการติดฉลากที่พีเอชค่อนข้างเป็นกลาง (pH 5.5) โดยการปรับ pH ก่อนการติดฉลากมีผลของ Free ReO_4^- สูงมาก ส่วนที่ pH 1 ทำการติดฉลากก่อนที่จะปรับ pH พบว่าร้อยละการติดฉลากค่อนข้างดี ค่า Free Re และ colloid น้อย ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ร้อยละการติดฉลากของ ^{188}Re -HEDP ที่ pH 1 และ pH 5.5

Sample	Free ReO_4^-	Colloid	%Labelling
pH 5.5	83.63 ± 3.35	3.85 ± 0.76	12.52 ± 4.04
pH 1	4.98 ± 1.27	4.04 ± 1.42	90.97 ± 2.9

1.3 ผลของปริมาณ carrier ต่อร้อยละการติดฉลาก

จากการติดฉลากพบว่าชนิดและปริมาณของ carrier มีผลต่อร้อยละของการติดฉลาก เมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณของ NH_4ReO_4 ตั้งแต่ 50 μg , 75 μg และ 100 μg โดยเปรียบเทียบกับ KReO_4 ที่ปริมาณเท่ากันพบว่า NH_4ReO_4 ปริมาณ 50 μg เป็น carrier ที่เหมาะสมที่ทำให้ร้อยละการติดฉลากสูงและสารละลายไม่เหลืองมาก ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ร้อยละการติดฉลาก ^{188}Re - HEDP เมื่อใช้ carrier ต่างชนิดกัน

Carrier	% Labelling		
	50 μg	75 μg	100 μg
KReO_4	91.92 ± 0.21	95.53 ± 1.40	88.12 ± 1.14
NH_4ReO_4	95.16 ± 0.26	92.2 ± 0.15	77.78 ± 3.95

1.4 ผลของปริมาตร $^{188}\text{ReO}_4^-$ ต่อร้อยละการติดฉลาก

จากผลการติดฉลากพบว่า ปริมาตร Re-188 มากกว่า 2 ml ร้อยละการติดฉลากจะน้อยกว่า 90% ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5. ร้อยละการติดฉลากของ $^{188}\text{Re-HEDP}$ kit ที่ Re-188 ปริมาตรต่างๆ

ปริมาตรของสารละลาย ^{188}Re (ml)	1	2	3	4
% Labeling	93.7 ± 3.25	98.13 ± 0.18	82.62 ± 0.07	74.11 ± 1.21

2. ผลการทดสอบคุณภาพ HEDP kit

จากผลการเตรียมสารประกอบสำเร็จรูป HEDP พบว่าให้ผลการติดฉลากที่ดี และยังคงให้ร้อยละการติดฉลาก ประมาณ 98.67% หลังจากเก็บในตู้เย็น ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) 24 ชั่วโมง และจากการทดลองเก็บ HEDP kit ที่ผลิต lot เดียวกันนี้ในตู้เย็นที่ $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ และตรวจสอบผลการติดฉลากเป็นระยะพบว่าสามารถเก็บไว้ได้นานถึง 5 เดือน โดยยังคงมีร้อยละการติดฉลากสูงดังแสดงในตารางที่ 6 ตารางที่ 6. ร้อยละการติดฉลาก HEDP kit ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศา

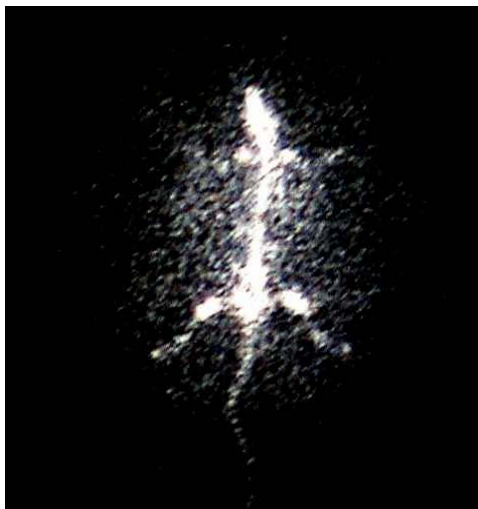
ระยะเวลาที่เก็บ	oh	3h	24h	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	5 เดือน
% Labelling	94.68 ± 2.19	98.88 ± 1.57	98.67 ± 1.88	95.13 ± 0.95	97.55 ± 0.30	98.33 ± 0.43	95.19 ± 0.50

1.3 ผลการศึกษาการกระจายตัวของ $^{188}\text{Re-HEDP}$

เมื่อทำการศึกษาการกระจายตัวของ $^{188}\text{Re-HEDP}$ โดยฉีดผ่านทางเส้นเลือดดำที่หาง (tail vein) ในหนู Rat พบว่ามีค่าการกระจายตัว (% ID/g) ของ $^{188}\text{Re-HEDP}$ ที่กระดูกมีค่า 1.372% , 1.302% , 1.154% ที่เวลา 2 ชม., 4 ชม., และ 24 ชม. ตามลำดับ โดยที่ $^{188}\text{Re-HEDP}$ จะกระจายตัวที่กระดูกมากที่สุดและส่วนที่เหลือจะถูกขับออกทางปัสสาวะเป็นส่วนใหญ่ ดังแสดงในตารางที่ 7 ส่วนในระบบเลือดค่าการกระจายตัวจะลดลงจนเกือบจะไม่มีเหลืออยู่ในระบบเลือดอีก ในขณะที่เดียวกันส่วนที่ไม่ไปกระจายตัวที่กระดูกก็จะถูกขับออกทางไตได้เกือบหมดใน 24 ชั่วโมง ส่วนอวัยวะอื่น เช่น ตับ (liver), กล้ามเนื้อ (muscle) , ปอด (lung) มีการกระจายตัวน้อยมาก โดยเมื่อเทียบอัตราส่วนปริมาณการกระจายตัวที่กระดูกกับอวัยวะเหล่านี้พบว่ามีความสูงมากตัวอย่างเช่น อัตราส่วนปริมาณการกระจายตัวของ $^{188}\text{Re-HEDP}$ ที่กระดูกต่อเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (bone/muscle) ที่เวลา 2ชม., 4ชม และ 24ชม เท่ากับ 59.65, 144.66 และ 384.66 ตามลำดับ พบว่าอัตราส่วนจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 24 ชั่วโมง และเมื่อพิจารณาอัตราส่วนปริมาณการกระจายตัวที่กระดูกต่อเลือด (bone/blood) ที่เวลา 2ชม., 4ชม และ 24ชม เท่ากับ 17.36, 28.30 และ 144.25 ตามลำดับ พบว่าอัตราส่วนเพิ่มขึ้นแสดงว่า $^{188}\text{Re-HEDP}$ เมื่อฉีดเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตในร่างกายแล้วจะไปกระจายตัวที่กระดูก ซึ่งเป็นอวัยวะเป้าหมายอย่างรวดเร็วแสดงว่ามีการกระจายตัวในอวัยวะที่ไม่ใช่อวัยวะเป้าหมายน้อยมากสอดคล้องกับภาพถ่ายทางรังสีในรูปแบบที่ 1

ตารางที่ 7 แสดงการกระจายตัว (%ID / g) ของ ^{188}Re -HEDP ในหนู ที่เวลา 2 ชม. , 4 ชม. และ 24 ชม. หลังฉีด

Organe	% Injected dose / g (mean \pm SD) of ^{188}Re - HEDP		
	2h	4h	24h
Liver	0.054 \pm 0.010	0.036 \pm 0.004	0.011 \pm 0.002
Spleen	0.034 \pm 0.008	0.028 \pm 0.002	0.000
Kidney	1.366 \pm 0.180	0.964 \pm 0.023	0.378 \pm 0.038
Muscle	0.023 \pm 0.002	0.009 \pm 0.002	0.003 \pm 0.004
Skin	0.000	0.000	0.000
Bone	1.372\pm0.1540	1.302\pm0.110	1.154\pm0.098
Lungs	0.080 \pm 0.035	0.041 \pm 0.006	0.014 \pm 0.007
Heart	0.035 \pm 0.005	0.019 \pm 0.004	0.000
Blood	0.079 \pm 0.008	0.046 \pm 0.004	0.008 \pm 0.002
Urine	105.821 \pm 58.507	128.877 \pm 20.201	224.380 \pm 81.04
Stomach	0.163 \pm 0.039	0.080 \pm 0.027	0.011 \pm 0.003
TOT GUT	0.059 \pm 0.010	0.080 \pm 0.011	0.028 \pm 0.013
Tail	0.310 \pm 0.044	0.319 \pm 0.054	0.284 \pm 0.047
Bone / Muscle	59.65	144.66	384.66
Bone / blood	17.36	28.30	144.25



รูปที่ 1 แสดงภาพถ่ายทางรังสีของสารเภสัชรังสี ^{188}Re -HEDP หลังจากฉีดเข้าทางเส้นเลือดดำของหาง 24 ชั่วโมง

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองติดฉลาก HEDP ด้วย Re-188 ซึ่งเตรียมมาจาก $^{188}\text{W} / ^{188}\text{Re}$ generator ในรูป carrier free เป็นเภสัชรังสี เพื่อนำไปใช้ในการบำบัดอาการปวดกระดูกจากการแพร่กระจายของมะเร็ง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการติดฉลากพบว่าการติดฉลากโดยใช้ HEDP 10 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 3 mg, Gentsic acid 4 mg และ NH_4ReO_4 50 μg ที่ pH 1 หลังจากนั้นจึงทำการปรับ pH ให้เป็น 5-6 ด้วยสารละลาย 0.3 M NaOAC pH 8 โดยที่ปริมาตรโดยรวม 2 ml ให้ผลการติดฉลากดีที่สุด 98.88% Carrier ที่ใช้ คือ NH_4ReO_4 50 μg พบว่ามีผลต่อสีของสารละลายจากเดิมใสเปลี่ยนเป็นสีเหลืองใสและจะเหลืองมากขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณตัว carrier จากข้อมูลพบว่ามีผลต่อบiodistribution และการถ่ายภาพด้วย gamma camera โดยจะให้ภาพที่ชัดเจนและได้ผลการติดฉลากมากกว่าร้อยละ 90 ผลการกระจายตัวในสัตว์ทดลองพบว่า % Injected dose / g ที่สะสมในกระดูกมีค่า 1.372 ± 0.154 ที่ 2 ชั่วโมงส่วนที่ไม่ uptake จะถูกขับออกทางไตอย่างรวดเร็วซึ่งเป็นผลดีเนื่องจากสารเภสัชรังสีจะไม่ค้างอยู่ในร่างกายนานจึงไม่ทำให้ผู้ป่วยได้รับรังสีโดยไม่จำเป็น

จากการเตรียมสารประกอบสำเร็จรูปของ HEDP (HEDP kit) ให้ผลการติดฉลากที่ดีมากให้ร้อยละการติดฉลาก 98.67% หลังจากเก็บในตู้เย็น (4 °C) 24 ชั่วโมง และตรวจสอบผลการติดฉลากเป็นระยะพบว่าสามารถเก็บไว้ได้นานถึง 5 เดือน โดยยังคงรักษาสภาพไปได้อย่างดี

จากการวิจัยครั้งนี้พบว่าสามารถเตรียมสารประกอบสำเร็จรูปของ HEDP kit ให้ค่าร้อยละการติดฉลากที่ดีและเมื่อทดสอบการกระจายตัวในสัตว์ทดลองให้ผลเป็นที่น่าพอใจ โดยผ่านมาตรฐานควบคุมคุณภาพทั้งทางด้านเคมีและชีววิทยาดังนั้นผลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลสำหรับนำไปศึกษาว่า ^{188}Re -HEDP เหมาะสมที่จะใช้เป็นยาฉีดเพื่อบรรเทาอาการปวดกระดูก

จากมะเร็งที่แพร่กระจายหรือไม่ โดยจะต้องมีการศึกษาทางคลินิกควบคู่กันไป เพื่อที่จะได้นำผลการวิจัยมาเปรียบเทียบเพื่อจะนำไปใช้ในการหาปริมาณ therapeutic dose ที่เหมาะสมในการรักษาโดยมีผลข้างเคียงต่อเซลล์เม็ดเลือดหรืออวัยวะปกติอื่นน้อยที่สุด เพื่อนำไปใช้ในการผลิตสารเภสัชรังสีสำหรับให้โรงพยาบาลทดลองใช้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. จิราภรณ์ โตเจริญชัย และภavana ภูสุวรรณ เทคโนโลยีทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์ พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพมหานคร สำนักพิมพ์ พี.เอ.ลิฟวิ่ง, 2545
2. Ketring A.R. 153 Sm-EDTMP and 186Re-HEDP as Bone Therapeutic Radiopharmaceuticals. **Nucl. Med. Bio.** (1987) 14 (3) : 223-232.
3. Maxon III H.R., Thomas S.R., Hertzberg V.S. , Schroder L.E., Englaro E.E. , Samaratunga R., Scher H.I. , Moulton J.S. , and Deutsch e.a. Rhenium-186 Hydroxyethylidene Diphosphonate for the Treatment of Painful Osseous Metastases. **Semi Nucl Med.** (1992) 12: 33-40.
4. De Klrk J.M.H., Zonnenberg B.A. , Vanhet Schip A.D., Van pijp A., Han S.H., Quirijnen J.M.S.P., Blijham G.H. and Van Rijk P.P. Dose Escalation study of Rhenium-186- Hydroxyethylidene Diphosphonate in patients with Metastatic Prostate Cancer. **Eur J. Nucl Med.** (1994) 21: 1114-1120.
5. KnappF.F., Beets A.L., and Guhlke S. et.al. Availability of Rhenium-188 from Aluminabased Tungsten-188/Rhenium-188 Generator for Preparation of Rhenium-188 Labelled Radiopharmaceuticals for Cancer Treatment. **Anticancer Res.** (1997) 17: 1783-1786.
6. Chang Y.S., Jeong J.H., Lee D.S., Chung J.K., Lee M.C., Koh M.C., Yu H.J., Cho J.H., and Knapp F.F., Effect of Carrier on Labelling and Biodistribution of 188Re-HEDP in Mice and Rats. **J Nucl Med**, (1998) 39:235p (abstracts)
7. Lin W.Y., Lin C.D., Yen S.J., Hsech B.T., Tsai Z.T., Ting G., Yen T.C., Wang S.T., Knappjr F.F., and Stabin M.G. Rhenium-188 Hydroxyethylidene Diphosphonate : A New Generator-Produced Radiotherapeutic Drug of Potential Value for the Treatment of Bone Metastases. **Eur J Nucl Med.** (1997) 24:590-595.
8. Hashimoto K., Synthesis of a 188Re-HEDP Complex using Carrier-free 188Re, and a study of its Staability. **App. Radiat. Isot.** (1998) 49: 351-356.