مجله‌ی علوم و فنون هسته‌ای
۷۷، ۱۳۹۵، ۶۲-۶۹

J. of Nucl Sci. and Tech.
77, 2016, 62-69

# تهیه و ارزیابی زیستی کمپلکس $In^{111}$ با [۵،۱۰،۱۵،۲۰- تتراکیس (٤- هیدروکسی فنیل) پورفیرین] در موش‌های سالم با استفاده از تصویربرداری SPECT

**شقایق صادقی، امیررضا جلیلیان*، محمد میرزایی، صدیقه مرادخانی**
**پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۸۳٦-۱٤۳۹۵، تهران ـ ایران**

**چکیده:** هدف از این پژوهش، سنتز کمپلکس [$In^{111}$-THPP] و ارزیابی آن به عنوان عامل تصویربرداری جدید است. رادیوداروی [$In^{111}$-THPP]، با استفاده از $InCl_3$[$In^{111}$] و لیگاند ۵،۱۰،۱۵،۲۰- تتراکیس (۴- هیدروکسی فنیل)- پورفیرین (THPP) در دمای $80^{\circ}C$ و به مدت ۶۰min سنتز شد. هسته‌ی پرتوزای $In^{111}$ از طریق بمباران کادمیم طبیعی با باریکه‌ای از پروتون‌های ۳۰MeV و جریان ۱۵۰μA در سیکلوترون حاصل شد. جداسازی به روش کروماتوگرافی یونی صورت گرفت و بازده‌ی جداسازی رادیوشیمیایی بیش‌تر از ۹۸٪ به دست آمد. برای مشاهده‌ی درصد نشان‌دارسازی یا به عبارتی برای اطمینان از فلزدار شدن پورفیرین، از دستگاه RTLC و HPLC استفاده شد (با خلوص رادیوشیمیایی بالاتر از ۹۹٪ در هر دو روش). ترکیب نشان‌دار به موش‌های سالم تزریق، و پراکنش زیستی آنها در فاصله زمانی ۲ تا ۲۴h، در ابتدا با استفاده از اندازه‌گیری‌های دوربین گاما، و در نهایت با استفاده از مطالعات پراکنش بافتی، ارزیابی و بررسی شد. مطالعات پراکنش زیستی نشان‌دهنده‌ی تجمع قابل قبول کمپلکس در کلیه‌ها نسبت به سایر بافت‌ها بود. کمپلکس اساساً از طریق کلیه‌ها دفع می‌شود و از آن‌جا که جذب در کبد بسیار کم و دفع از آن سریع است، می‌تواند عاملی سودمند در ردیابی و تصویربرداری قلمداد شود.

***کلیدواژه‌ها: هیدروکسیل فنیل پورفیرین، ایندیم، پراکنش زیستی، مقطع‌نگاری رایانه‌ای با گسیل تک فوتونی***

# Preparation and Biological Evaluation of [$^{111}$In]-THPP [5, 10, 15, 20-tetrakis (4-Hydroxyphenyl) Porphyrin] Complex in Healthy Rats Via SPECT Imaging

**S. Sadeghi, A.R. Jalilian*, M. Mirzaii, S. Moradkhani**
**Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O.Box: 14395-836, Tehran – Iran**

**Abstract:** The aim of this research was the synthesis of $^{111}$In-THPP, and its evaluation as a new imaging agent. The $^{111}$In-THPP radiotracer was synthesized by $^{111}InCl_3$ and 5, 10, 15, 20-tetrakis (4-hydroxyphenyl) porphyrin) (THPP) in solution for 60 min at 80˚C. In-111 radionuclide was produced from proton bombardment of $^{nat}$Cd target using 30MeV protons and 150μA current. Separation was achieved using ion chromatography method with the separation yield of >98%. In order to determine the radiolabeling yield (or metallation) radio thin layer chromatography (RTLC) and high performance liquid chromatography (HPLC) were used (with the radiochemical yield of >99% for both methods). The radiolabeled compound was injected to the healthy rats and the biodistribution studies were performed using scarification. The single photon emission computed tomography (SPECT) imaging within 2-24h shows the accumulation of $^{111}$In-THPP in the kidneys, compared to other organs. $^{111}$In-THPP is essentially excreted via kidneys. Due to relatively low liver uptake and kidney wash-out, $^{111}$In-THPP could be a potential agent for imaging.

***Keywords:*** ***Hydroxyphenyl Porphyrin, Indium, Biodistribution, SPECT***

*email: arjalilian@aeoi.org.ir
تاریخ دریافت مقاله: ۹۴/۲/۲۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۵/۳/۲۹

## ۱. مقدمه

مقطع‌نگاری رایانه‌ای با گسیل تک‌فوتونی (SPECT) روش مرسومی است که در تصویربرداری پزشکی هسته‌ای استفاده می‌شود. دوربین‌های SPECT تصاویر صفحات چندگانه از پرتوزایی اعضای بدن را دریافت می‌کنند. این داده‌ها با استفاده از فرایندهای ریاضی، تصاویری از سطح مقطع ارگان را می‌سازند [۱]. رادیوایزوتوپ $^{111}In$ جزء هسته‌های پرتوزایی است که در شتاب‌دهنده‌ها تولید می‌شوند. برای اولین بار در سال ۱۹۷۰، $^{111}In$ برای تعیین محل تومور در جانوران به کار رفت. ایندیم از طریق الکترون‌گیری تلاشی می‌کند و در نتیجه‌ی گیراندازی الکترون، به $^{111}Cd$ پایدار تبدیل می‌شود. این عمل همراه با گسیل دو گامای ۱۷۱ و ۲۴۵ KeV است که به ترتیب ۱۰٪ و ۶٪ با تبدیل داخلی رقابت می‌کنند. نیمه‌عمر فیزیکی و بیولوژیکی $^{111}In$ به ترتیب ۶۷ و ۸۲h است که در مطالعات بافت زنده کاربرد مفیدی دارند. نیمه‌عمر مناسب آن باعث شده است تا این رادیوایزوتوپ برای مطالعات داخل بدن، بدون این‌که بیمار در معرض پرتوزایی زیاد قرار گیرد تا چندین روز بتواند استفاده شود [۲]. به طور کلی رادیوایزوتوپ $^{111}In$ به صورت مستقیم با برخورد ذرات پرتابی مانند (α، β، P، d) به هدف‌های مورد نیاز مانند $^{112}Cd$ و $^{111}Cd$ تولید می‌شود [۳].

این رادیوایزوتوپ پرمصرف‌ترین رادیوایزوتوپ فلزی مورد استفاده در نشان‌دارسازی پادتن‌ها است که کاربردهای فراوانی در پزشکی هسته‌ای دارد. ظرفیت سه‌ی این فلز، عدم وجود شکل‌های گوناگون اکسایش و ویژگی عالی تولیدی پایدار اکتاگونال از نکات مثبت شیمیایی این عنصر است. ضمن آن‌که خواص هسته‌ای مناسبی نیز از نظر دوربین‌های تشخیصی از خود نشان داده است. علاوه بر این، برای نشان‌دار کردن ترکیب‌های بسیاری برای مقاصد مختلف تشخیصی استفاده می‌شود [ ۴].

گزارش‌هایی مبنی بر استفاده از $^{111}In$ در نشان‌دارسازی ترکیب‌های پورفیرینی موجود است که اغلب به دلیل نیمه‌عمر طولانی‌تر این رادیوایزوتوپ، برای مطالعات زمان طولانی در تومورها به کار رفته است [۵، ۶]. در بسیاری از تومورها، جذب تأخیری رادیوداروها رخ می‌دهد که بسیار مهم است و پس از پاک شدن اغلب اعضا از زمینه‌ی ناخواسته‌ی تصاویر تأخیری، کمک شایانی در تصویربرداری موفق می‌کند و نیمه‌عمر تقریبی ۳d این ایزوتوپ برای این منظور مناسب است.

به دلیل تنوع و گستردگی عملکرد پورفیرین‌ها و متالوپورفیرین‌ها در سیستم‌های حیاتی، سنتز این ترکیب‌ها بر پایه‌ی مدل‌های زیست‌شناختی، در صنعت داروسازی توجه دانشمندان و پژوهشگران را به خود جلب کرده است. در سال‌های اخیر، آثار دارویی این ترکیب‌ها و مشتق‌های آنها در تشخیص مراحل اولیه‌ی تومورهای سرطانی و درمان فوتودینامیکی سرطان‌ها، موجب شده است تا دانشمندان سنتز آنها را به طور جدی دنبال کنند [۷، ۸].

مولکول ۵،۱۰،۱۵،۲۰- تتراکیس (۴- هیدروکسی فنیل)- پورفیرین) (THPP)، مشتق معروف پورفیرین، به دلیل حساسیت نوری و گزینش‌پذیری بالا، توانایی درمان سرطان را دارد و در فتودینامیک تراپی استفاده می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده که در تخریب بافت‌های توموری، THPP دارای بالاترین بازده و کم‌ترین عوارض جانبی است [۹]. به همین دلیل، انتظار می‌رود که نشان‌دارسازی THPP با رادیوایزوتوپ‌های مناسب، ترکیب‌های فعال دارویی را به دست دهد تا بتواند برای مقاصد تشخیصی و درمانی استفاده شود. گزارش شده است که $^{111}In$ نشان‌دار شده با بسیاری از پورفیرین‌ها، تجمع مناسبی را در بافت‌های توموری نشان می‌دهد. به همین دلیل، تلاش به منظور ساخت رادیودارویی (بر پایه پورفیرین) بوده است که قادر به تشخیص بافت سرطانی باشد [۱۰، ۱۱].

در این پژوهش، به نشان‌دارسازی پورفیرین با $^{111}In$ که در سیلکوترون تولید می‌شود پرداخته، و تولید، کنترل کیفی محصول، توزیع زیستی رادیودارو در موش‌های سالم و تصاویر SPECT ترکیب نشان‌دار، ارزیابی و بررسی شده است.

## ۲. مواد

تولید $^{111}In$ در سیکلوترون ۳۰MeV (Cyclone-30, IBA) مرکز کرج اجرا شد. مواد شیمیایی از شرکت آلدریچ (آلمان)، و رزین‌های تعویض یونی از آزمایشگاه‌های بیو- راد (کانادا) خریداری شدند. محلول نرمال سالین و سدیم استات به کار رفته برای نشان‌دارسازی، دارای خلوص بالا بوده و با صافی‌های Cativex ۰٫۲۲ μm فیلتر شدند. روش کار با

جانوران آزمایشگاهی براساس استاندارد کار با جانوران انگلستان طبق آیین‌نامه‌ی مصوب ۲ انجام شد.

## ۳. روش‌ها

### ۱.۳ تولید هسته‌ی پرتوزای $^{111}In$

#### ۱.۱.۳ آماده‌سازی زمینه‌ی مسی لایه‌ی نشانده شده با طلا

ابتدا به میزان کافی از ترکیب طلا (III) در آب دو بار تقطیر حل، سپس محلول حاصل طی مدت ۲۴h خشک، می‌شود. آن‌گاه به محلول، آمونیاک ۲۵٪ افزوده می‌شود که در این مرحله، رسوب قهوه‌ای رنگی تشکیل می‌شود. با افزودن KCN، مایع شفاف سیانید طلا به دست می‌آید. با افزودن مخلوطی از پتاسیم دی هیدروژن فسفات و اسید سیتریک به محلول سیانید طلا، و سپس با افزودن KOH، عدد pH واکنش روی ۵/۵ تا ۶ تنظیم می‌شود. ولتاژ ثابت در طی آزمایش ۲/۷ V، دما ۶۰°C و مدت زمان انجام واکنش ۲۴ h است.

### ۲.۳ آماده‌سازی هدف طلای لایه‌ی نشانده شده با کادمیم

#### ۱.۲.۳ آماده‌سازی محلول الکترولیت

کادمیم سولفات پتاسیم در آب مقطر حل می‌شود. سپس محلول حاصل به مدت ۵min بر روی همزن مغناطیسی قرار داده، و بعد از آن ۲ml از $N_2H_4OH$ به محلول افزوده، و حجم محلول به ۴۸۰ml رسانده می‌شود. مدت زمان انجام فرایند ۲۴h است.

### ۳.۳ آماده‌سازی هدف

در این مرحله، هدف‌ها وزن شده و سپس در جای‌گاه سلول آبکاری قرار داده می‌شوند. آن‌گاه محلول الکترولیت تهیه شده در مرحله‌ی قبل، داخل سلول آبکاری ریخته می‌شود. جریان متصل به سلول بر روی ۳۲۰A تنظیم می‌شود. مدت زمان انجام فرایند ۲۷۰min است.

### ۴.۳ فرایند بمباران هدف و جداسازی $^{111}In$

واکنش هسته‌ای $^{111}In$ $^{112}cd(p,2n)$ بهترین آن به منظور تولید $^{111}In$ است. سایر ناخالصی‌ها می‌توانند توسط فرایند جداسازی رادیوشیمیایی جدا شوند. بعد از فرایند بمباران هدف، جداسازی شیمیایی در حالت بدون حامل افزوده، انجام شد. هدف پرتودهی شده در اسیدکلریدریک ۱۰M حل، و سپس از روی رزین تبادل کاتیونی که قبل از آن با HBr آماده‌سازی شده بود، عبور داده شد. در این مرحله $^{111}In$ جذب ستون می‌شود. آن‌گاه به منظور جداسازی کامل یون‌های مس و کادمیم، ستون با ۲۵ml از HBr به غلظت ۹M با سرعت ۱ml/min شسته شد. در نهایت $^{111}In$ با HBr به غلظت ۴M شسته شد. در این مرحله، از روش جداسازی حلال با دی ایزوپروپیل اتر DIPE استفاده می‌شود. محصول نهایی به صورت $^{111}In][InCl_3$ تهیه می‌شود. مدت زمان فرایند حدود ۱۸۰min بود.

### ۵.۳ کنترل کیفی محصول

#### ۱.۵.۳ خلوص هسته‌ی پرتوزا

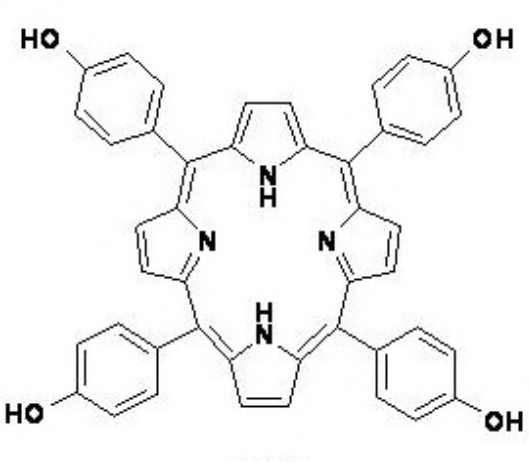
طیف نمایی پرتو گامای محصول نهایی، با استفاده از آشکارساز فوق خالص ژرمانیم (HPGe) و تحلیل‌گر چندکاناله Canberra™ برای ۱۰۰۰s انجام شد.

#### ۲.۵.۳ کنترل خلوص شیمیایی

این مرحله برای اطمینان از مقدار یون‌های کادمیم و مس ایجاد شده از هدف و نگه‌دارنده‌ی آن در محصول‌نهایی، در مقایسه با استانداردهای بین‌المللی انجام می‌شود. خلوص شیمیایی توسط پُلاروگرافی[1] پالس تفاضلی آندی انجام گرفت. حدود آشکارسازی سیستم مورد استفاده، ۰/۱ppm برای هر دو یون مس و کادمیم است.

### ۶.۳ تهیه‌ی $^{111}In$]-THPP[

شکل ۱، ساختار ملکولی ترکیب THPP را نشان می‌دهد. برای تهیه‌ی این ترکیب، مقدار ۱۰۰ µl از $^{111}In][InCl_3$ از محلول اسیدی (۰/۱nmol, ۱۸۵MBq, ۵mCi) به یک ویال ۵ml از جنس بوروسیلیکات افزوده، و با جریان گاز $N_2$ در دمای ۵۰ تا ۶۰°C خشک شد. ۱۰۰ µl از THPP محلول در اتانول مطلق (۲۰mg/ml, ۲۹۶nmoles) به ظرف حاوی ایندیم و سپس بافر استات به آن افزوده شد. مخلوط در دمای ۸۰°C به مدت ۳۰ تا ۶۰min هم‌زده شد. خلوص رادیوشیمیایی محلول فعّال با استفاده از تکنیک‌های RTLC و HPLC بررسی شد. محلول حاصل در نهایت از یک فیلتر ۰/۲۲ mm عبور داده، و اسیدیته‌ی آن در محدوده‌ی pH ۵/۵ تا ۷ تنظیم شد.




**شکل ۱.** ساختار مولکولی ۵،۱۰،۱۵،۲۰- تتراکیس (۴- هیدروکسی فنیل)- پورفیرین (THPP).

### ۷.۳ کنترل کیفی پورفیرین نشان‌دار شده با $^{111}In$

#### ۱.۷.۳ کروماتوگرافی لایه‌ی نازک پرتوزا

یک نمونه‌ی ۵µl از محصول نهایی به صورت یک نقطه بر روی یک کاغذ کروماتوگرافی واتمن شماره ۲ قرار داده، و سپس کاغذ در فاز متحرک مخلوط آمونیم استات ۱۰٪ و متانول (به نسبت ۱:۱) بررسی شد.

#### ۲.۷.۳ کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا

HPLC ترکیب نشان‌دار با جریان ۱ ml/min و فشار ۱۳۰ $kgf/cm^2$ به مدت ۲۰ min با محلول شستشویی متشکل از ۲ ترکیب آب و استونیتریل به نسبت ۱:۴ با استفاده از ستون فاز معکوس C18 به ابعاد ۲۵۰ mm×۴٫۶ انجام شد.

### ۸.۳ بررسی پایداری پورفیرین نشان‌دار شده با $^{111}In$

بررسی پایداری کمپلکس، با روش RTLC مرسوم انجام شد. نمونه‌ی $^{111}In$]-THPP[ (۲۹۶ MBq) برداشته، و به مدت ۲d در دمای محیط قرار داده شد. تهیه‌ی رادیوکروماتوگرام با استفاده از کروماتوگرافی لایه‌ی نازک پرتوزا، در فواصل زمانی معین انجام گرفت. برای مطالعات پایداری، ۵۰۰µl از سرُم تازه‌ی خون انسان پس از اضافه شدن به پورفیرین نشان‌دار، در یک ویال هم زده شد و در دمای ۳۷°C به مدت ۴۸h انکوبه شد. ۵µl از نمونه، به منظور آنالیز RTLC استفاده شد.

### ۹.۳ پراکنش زیستی ترکیب نشان‌دار در موش‌های سالم

پراکنش زیستی ترکیب نشان‌دار در بافت‌های حیاتی موش سالم، بلافاصله بعد از تصویربرداری انجام گرفت. مقدار پرتوزایی تزریق شده به هر موش با یک سرنگ ۱ µl با استفاده از یک کالیبراتور دُز با هندسه‌ی ثابت، اندازه‌گیری شد. میزان پرتوزایی تجویز شده برابر ۱٫۸۵ MBq (۵۰ µCi) بود. موش‌های مورد آزمایش، به شیوه‌ی خفگی در محیط پُر از $CO_2$ قربانی شدند. بافت‌های خون، قلب، شش، مغز، روده، پوست، معده، کلیه، کبد، ماهیچه و استخوان ابتدا با نرمال سالین شسته، و وزن شدند. پرتوزایی ویژه با استفاده از آشکارساز فوق خالص ژرمانیم (HPGe) که مجهز به یک نگه‌دارنده‌ی نمونه بود به صورت دُز تزریقی در بافت‌ها در هر گرم از بافت گزارش شد.

### ۱۰.۳ تصویربرداری از ترکیب نشان‌دار در موش‌های سالم

تصاویر در زمان‌های ۲، ۴ و ۲۴h پس از تزریق، با دوربین گاما (Dual-Head SPECT) ثبت شد. بهترین عرصه‌ی دید (UFOV)[۲] اندازه‌ی ۴۰۰ mm×۵۴۰ mm است.

## ٤. بحث و نتایج

تولید ایندیم به شکل $InCl_3$ از طریق بمباران هدف Cd، طی جریان ۲۵MeV، در سیکلوترون-۳۰ انجام شد. هدف با جریان ۱۵۰µA بمباران شد. جداسازی شیمیایی بر مبنای روش بدون استفاده از حامل افزوده انجام گرفت. جداسازی رادیوشیمیایی به شیوه‌ی کروماتوگرافی تعویض یونی با کارایی بالاتر از ۹۹٪ در دو مرحله اجرا شد. کنترل کیفی محصول نیز در دو مرحله انجام شد. کنترل هسته‌ی پرتوزا، حکایت از حضور انرژی‌های گاما (۱۷۱ و ۲۴۵ KeV) دارد که خود نشان‌دهنده‌ی خلوص بیش از ۹۹٪ هسته‌ی پرتوزای $^{111}In$ است. ناخالصی مس و کادمیم حاصل از ماده‌ی هدف (هدف مسی) به روش پُلاروگرافی اندازه‌گیری شد و نتایج نشان داد که با استانداردهای بین‌المللی (USP) که برابر ۰٫۱ ppm است، مطابقت کامل دارد. در عمل هیچ‌گونه یون مس و کادمیم در محصول نهایی مشاهده نشد.

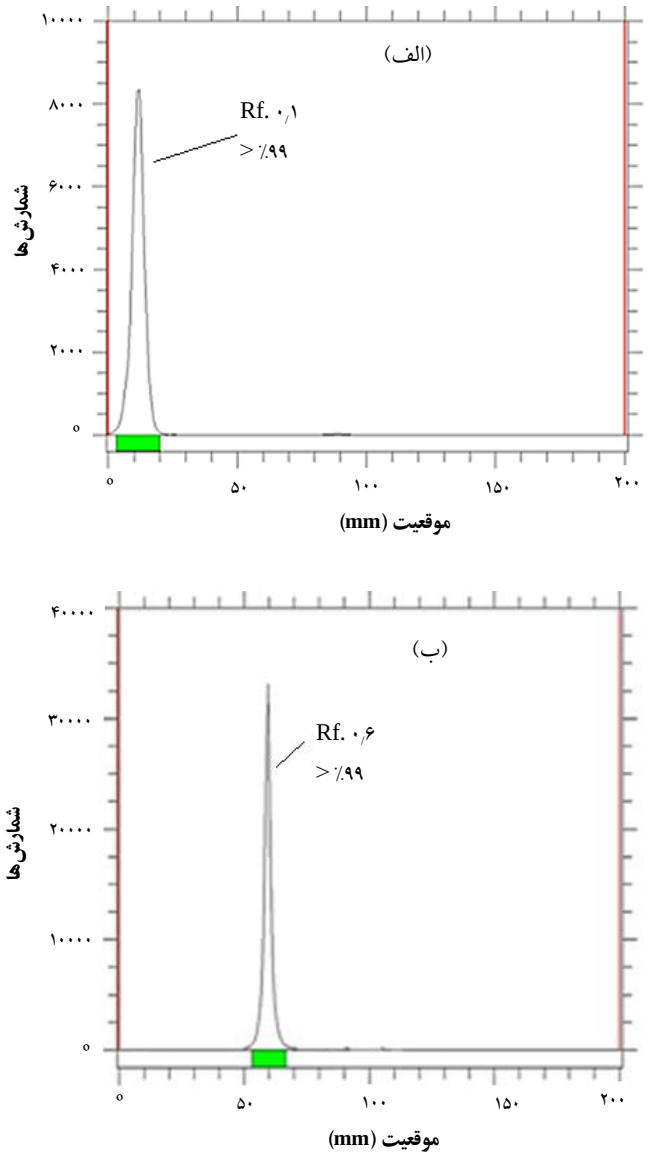
پس از تهیه‌ی رادیودارو، برای مشاهده‌ی درصد نشان‌دارسازی، نسبت کمپلکس ایندیم- پورفیرین به $^{111}In$ آزاد ($InCl_3$)، از RTLC استفاده شد. با استفاده از تکنیک RTLC،

می‌توان حضور هر دو گونه‌ی کمپلکس شده و $In^{111}$ را اندازه‌گیری کرد. این دستگاه، درصد پرتوزایی هر گونه را مشخص می‌کند. در هر نشان‌دارسازی، با مقایسه‌ی قله‌ی پرتوی مولکول نشان‌دار پورفیرین با $In^{111}$، دیده شد که قله‌ی ترکیب نشان‌دار نسبت به قله‌ی پرتوی یون $In^{111}$ در $R_f = 0$ ظاهر می‌شود.

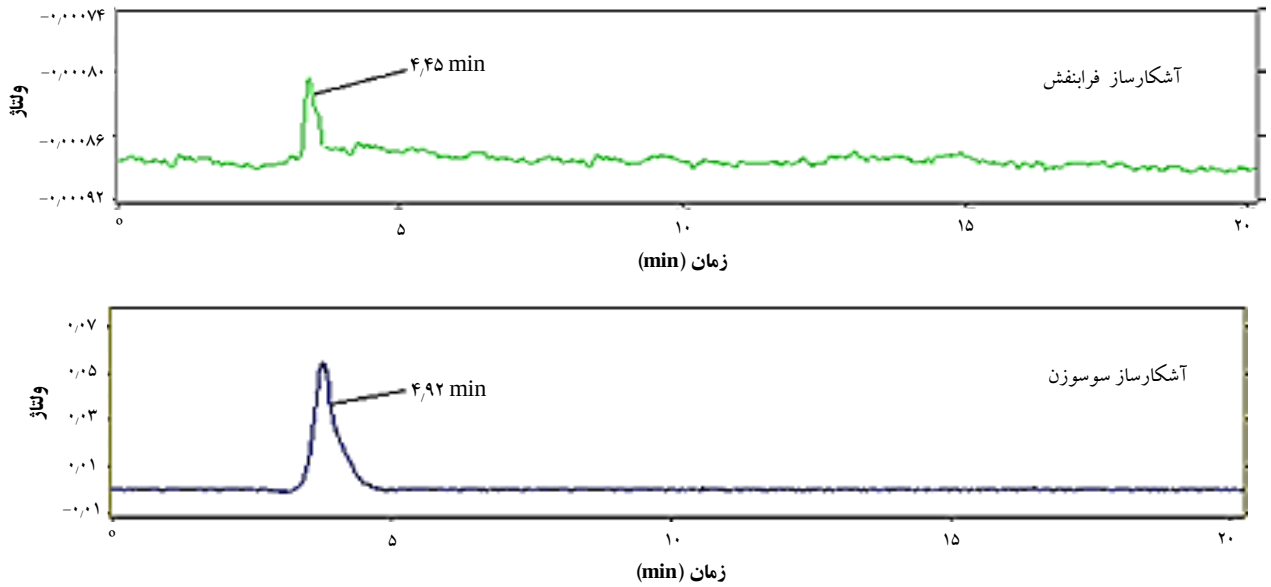
در این آزمایش، از یک حلال شوینده‌ی قطبی (متانول و آمونیم استات) استفاده شد. یون آزاد ایندیم که دارای برهم‌کنش بیش‌تر با فاز ساکن نسبت به کمپلکس است، در محل نقطه‌گذاری باقی می‌ماند و کمپلکس پورفیرین $In^{111}$ به نقاط بالاتر مهاجرت می‌کند. دلیل عمده‌ی حلالیت ترکیب نشان‌دار در حلال قطبی (فاز متحرک)، حضور گروه عاملی OH در ساختار ترکیب است که باعث ایجاد برهم‌کنش با فاز متحرک می‌شود. شکل ۲، مربوط به RTLC ترکیب‌های ایندیم کلراید $InCl_3[In^{111}]$ و $[In^{111}]$-THPP است. همان‌طور که در رادیوکروماتوگرام‌ها مشاهده می‌شود، $R_f$ ترکیب $[In^{111}]$-THPP برابر با ۰٫۶ است.

مطالعات HPLC نیز حاکی از حضور دوگونه‌ی متفاوت، با استفاده از آشکارسازهای فرابنفش و سوسوزن هسته‌ای است. آشکارساز فرابنفش، حضور گونه‌ی پورفیرینی، و آشکارساز سوسوزن هسته‌ای، حضور گونه‌ی پرتوزا را نشان می‌دهند. بر روی فاز معکوس ستون کربن C18 و فاز متحرک، مخلوط آب با استونیتریل حلال‌پوشی ترکیب $InCl_3$ در مقایسه با ترکیب‌های نشان‌دار بیش‌تر است. به همین دلیل، قله‌ی HPLC آن در ۱٫۰۲ min حضور دارد، یا به عبارتی کاتیون ایندیم آزاد، دارای زمان بازداری کوتاه‌تری است، در حالی‌که قله‌ی ۴٫۹۲ min (سوسوزن هسته‌ای) متناسب با قله‌ی ۴٫۴۵ min (آشکارساز فرابنفش) برای $[In^{111}]$-THPP مشاهده می‌شود. تفاوت جزئی این دو زمان بازداری به دلیل قرار گرفتن این دو آشکارساز به صورت سری در مسیر است. (شکل ۳).

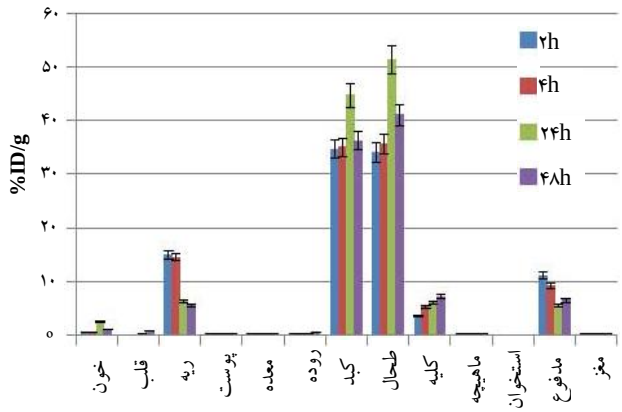
برای مقایسه‌ی بهتر، این مطالعه در مقایسه با یون آزاد $In^{+3}$ انجام گرفت. همان‌طور که قبلاً گزارش شده است، دفع $In^{111}$ از طریق سیستم کبد، و به مقدار کم‌تر، از طریق مسیر روده و معده است. کاتیون $In^{111}$ تقریباً مشابه کاتیون آهن عمل می‌کند و بلافاصله از سیستم گردش خون حذف می‌شود و در کبد تجمع می‌یابد، زیرا کبد محل ذخیره‌ی اغلب فلزاتی است که از سرُم منتقل می‌شوند و از آن طریق نیز دفع می‌شود [۱۲]. البته به دلیل این که کاتیون $In^{111}$ دارای قابلیت انحلال در آب است، می‌تواند از طریق کلیه‌ها نیز دفع شود. میزان جذب سایر اندام‌ها چندان قابل توجه نیست. اطلاعات %ID/g ترکیب $InCl_3$ به صورت خلاصه در شکل ۴ نشان داده شده است.




**شکل ۲.** رادیوکروماتوگرام کاتیون آزاد ایندیم ($In^{+3}$) (الف) و ایندیم نشان‌دار شده با پورفیرین (b)-THPP-[$In^{111}$] (ب) بر روی کاغذ کروماتوگرافی واتمن شماره ۲ در فاز متحرک مخلوط آمونیم استات ۱۰٪ و متانول (به نسبت ۱:۱).




**شکل ۳.** کروماتوگرام HPLC ترکیب نشان‌دار THPP-[$^{111}$In] بر روی فاز معکوس ستون C18 و فاز متحرک مخلوط آب استونیتریل.

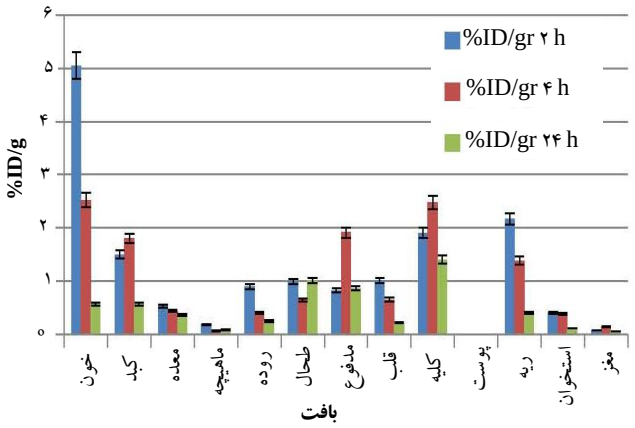



**شکل ٤.** پراکنش زیستی کلرید ایندیم $^{111}InCl_3$] در اندام موش‌های سالم پس از تجویز ۱٫۳۵ KBq (۵۰μCi) از محلول پرتوزا در بازه‌ی زمانی ۲ تا ۲۴h.

از آن‌جا که THPP نشان‌دار شده رفتار مشابهی با THPP آزاد دارد، مسیر اصلی THPP نشان‌دار شده با $^{111}$In همانند THPP آزاد، مجاری ادراری و کلیه‌ها است. بیش‌ترین میزان دفع ترکیب نشان‌دار در فاصله‌ی ۲۴h پس از تزریق، از طریق کلیه‌ها است [۱۳]. یک تفاوت متمایز در محتوای پرتوزایی خون برای کاتیون ایندیم آزاد و ترکیب نشان‌دار مشاهده شده است. مقدار بالاتر ترکیب نشان‌دار در خون، نتیجه‌ی انرژی پیوند بالای هسته‌ی پرتوزا با لیگاند است، و از طرفی توزیع بهتر این رادیودارو در خون را نشان می‌دهد. مقایسه‌ی پرتوزایی ترکیب نشان‌دار با کاتیون آزاد ایندیم نشان داد که میزان پرتوزایی کاتیون آزاد در طحال بیش‌تر از ترکیب نشان‌دار است. از آن‌جا که کاتیون فلزی می‌تواند با سلول‌های خونی درگیر شود و همچنین به دلیل محتوای بالای پروتئین‌های گوگرددار در این اندام، محتوای پرتوزایی کاتیون در این اندام در مقایسه با ترکیب نشان‌دار، بالاتر است (شکل ۵).

معمولاً برای رادیوداروهای تشخیصی لیپوفیلی مورد استفاده در تعیین محل تومورها، نسبت جذب کلیوی به کبدی رادیودارو برای کاهش دُز دریافتی به بیمار و سرعت پاک شدن بدن از رادیودارو مورد توجه است، چنان‌که می‌توان به صورت نظری نسبت جذب کلیه به کبد در هر زمان اندازه‌گیری دز جذبی بافتی را به عنوان معیاری برای ارزش ترکیب نشان‌دار فرض کرد. جدول ۱، این نسبت را در بازه‌های زمانی اندازه‌گیری شده‌ی دز بافتی نشان می‌دهد. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، نسبت در همه موارد بیش‌تر از یک است که می‌تواند نکته‌ی ارزشمندی برای امکان تصویربرداری مناسب این ترکیب نشان‌دار از مدل‌های توموری در مطالعات پیش‌رو باشد.

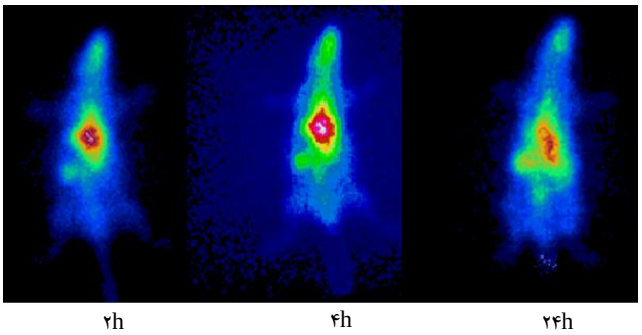
تصویربرداری [$^{111}$In-THPP] در موش‌های صحرایی وحشی، یک انباشتگی متمایز در سیستم گوارشی و کلیه‌ها، تمام مدت پس از تزریق را نشان داد. پرتوزایی در نواحی کلیه‌ها و مقدار کمی از آن در سیستم گوارشی ۴h پس از تزریق، مشاهده می‌شود. با توجه به محتوی بالای پرتوزایی در مثانه، بیش‌ترین مقدار دفع ۲۴h پس از تزریق ترکیب نشان‌دار است. بیش‌تر پرتوزایی بعد از ۲۴h از بدن خارج می‌شود و تقریباً هیچ عضوی از بدن، مقادیر بالایی از پرتوزایی را در تصاویر SPECT نشان نمی‌دهد (شکل ۶).




**شکل ۵.** پراکنش زیستی THPP-[$In^{111}$] در اندام‌های موش سالم تا ۲۴h پس از تزریق.

**جدول ۱.** نسبت جذب کلیه به کبد در هر زمان اندازه‌گیری برای ترکیب In-THPP$^{111}$.

| زمان | نسبت جذب |
|---|---|
| ۲h | ۱٫۲۷ |
| ۴h | ۱٫۳۷ |
| ۲۴h | ۲٫۴۷ |




**شکل ٦.** تصویر حاصل از تصویربرداری SPECT ترکیب [$In^{111}$]-THPP تزریق شده به موش‌های سالم در زمان‌های ۲ تا ۲۴ h پس از تزریق.

## ۵. نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر، فرایند نشان‌دارسازی را با $In^{111}$ نشان داد. فرایند نشان‌دارسازی در حدود ۱۰۰ min دقیقه به طول انجامید. خلوص رادیوشیمیایی محصول از طریق روش RTLC و HPLC بالاتر از ۹۹٪ محاسبه شد. ترکیب نشان‌دار به مدت ۴۸h در فرمول نهایی و سرُم خون انسان پایدار ماند. ترکیب نشان‌دار [In-THPP$^{111}$] از طریق سیاهرگ دمی به موش‌های سالم تزریق شد. اطلاعات حاصل از نمودار توزیع زیستی ترکیب نشان‌دار در موش‌های سالم بیان‌کننده‌ی تجمع پرتوزایی در کلیه‌ها بود، و می‌توان نتیجه گرفت که بیش‌ترین میزان دفع ترکیب نشان‌دار از طریق مجاری ادرای و کلیه‌ها بوده است. از طرفی، با در نظر گرفتن شسته شدن سریع، زمان نیمه‌عمر کم و مقدار کم‌تر دُز تابیده شده به جاندار، ترکیب نشان‌دار تولید شده می‌تواند یک انتخاب مناسب برای کاربردهای تشخیصی در تومور باشد.

## پی‌نوشت‌ها

1. Polarography
2. Useful Field of View

## مراجع


[1] B. Bybel, R.C. Brunken, F.P. DiFilippo, D.R. Neumann, G. Wu, M.D. Cerqueira, SPECT/CT Imaging: Clinical Utility of an Emerging Technology, *Radiographics* **28** (2008) 1097-1113.

[2] M. Sundberg, C. Meares, C.D. Goodwin, Chelating agents for the binding of metal ions to macromolecules, *Nature* **250** (1974) 587-588.

[3] S. Moerlein, M. Welch, The chemistry of gallium and indium as related to radiopharmaceutical production, *Int. J. Nucl. Med. Biol*. **8** (1981) 277-287.

[4] M. Welch, T. Welch, Solution chemistry of carrier-free indium. Radiopharmaceuticals, The Society of Nuclear Medicine, **73**, New York (1975).

[5] K. Yamazaki, S. Hirata, S. Nakajima, Y. Kubo, N. Samejima, I. Sakata, Whole body Autoradiography of Tumor-bearing Hamsters with a New Tumor Imaging Agent, Indium-111 labeled Porphyrin. JPN. *J. Cancer Res*. **79** (1988) 880-884.

[6] M. Quastel, A. Richter, J. Levy, Tumour scanning with indium-111 dihaematoporphyrin ether, *Br. J. Cancer* **62** (1990) 885.

[7] C.H. Lee, F. Li, K. Iwamoto, J. Dadok, A.A. Bothner, J.S. Lindsey, Synthetic approaches to regioisomerically pure porphyrins bearing four different meso-substituents, *Tetrahedron* **51** (1995) 11645-11672.

[8] K. Lang, J. Mosinger, D. Wagnerová, Photophysical properties of porphyrinoid sensitizers non-covalently bound to host molecules; models for photodynamic therapy, *Coordin. Chem. Rev*. **248** (2004) 321-350.

[9] J. Rovers, K.A. Saarna, A. Molina, J. Schuitmaker, H. Sterenborg, O. Terpstra, Effective treatment of liver metastases with photodynamic therapy, using the second-generation photosensitizer meta-tetra (hydroxyphenyl) chlorin (mTHPC), in a rat model, *Brit. J. Cancer* **81** (1999) 600.

[10] K. Yamazaki, S. Hirata, S. Nakajima, Y. Kubo, N. Samejima, I. Sakata, Whole-body Autoradiography of Tumor-bearing Hamsters with a New Tumor Imaging Agent, Indium-111-labeled Porphyrin, *Cancer. Sci* **79** (1988) 880-884.

[11] M. Quastel, A. Richter, J. Levy, Tumour scanning with indium-111 dihaematoporphyrin ether, *Brit. J. Cancer* **62** (1990) 885.

[12] A.R. Jalilian, H. Zandi, D. Sardari, M. Akhlaghi, P. Rowshanfarzad, F. Saddadi, Preparation and biological evaluation of [$^{61}$Cu] bleomycin complex as a possible PET radiopharmaceutical in normal and fibrosarcoma-bearing animals, *Nukleonika* **54** (2009) 135-141.

[13] Q. Peng, J. Moan, L.W. Ma, J.M. Nesland, Uptake, localization, and photodynamic effect of meso-tetra (hydroxyphenyl) porphine and its corresponding chlorin in normal and tumor tissuesof mice bearing mammary carcinoma, *Cancer Res*. **55** (1995) 2620-2626.