



سنتر لیگاند متوکسی آمیدو زانتات و بهینه‌سازی شرایط نشان‌دارسازی با ^{99m}Tc به عنوان عامل تصویربرداری SPECT

زهرا عرب حلوائی باقری^۱، سید محمودرضا آقامیری^۱، الهام ستارزاده خامنه^۲، سعید کاکایی^{۲*}، حسن یوسف‌نیا^۱
۱. گروه مهندسی پرتو پزشکی، دانشگاه شهید بهشتی، صندوق پستی: ۴۷۱۶-۱۹۸۳۹، تهران-ایران
۲. پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، صندوق پستی: ۱۱۳۶۵-۳۴۸۶، تهران-ایران

*Email: skakaei@aeoi.org.ir

مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۱/۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۳/۱

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، سنتز، ترکیب متوکسی آمیدو زانتات MAX و نشان‌دارسازی آن با رادیونوکلید ^{99m}Tc به عنوان یک عامل تشخیصی نوین جهت تصویربرداری توموگرافی رایانه‌ای تک فوتونی (SPECT) می‌باشد. لیگاند فوق از واکنش بین دو ماده‌ی کلرواستامید (Chloroacetamide) و مشتقات زانتات (Xanthate) با نسبت‌های مولی معین سنتز شد. سپس فرایند نشان‌دارسازی لیگاند MAX از طریق دوشیدن ^{99m}Tc از ژنراتور ($^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$) و به روش مستقیم انجام گرفت. به این ترتیب که قلع کلرید به عنوان عامل کاهنده مورد استفاده قرار گرفت و اثر پارامترهایی از قبیل عوامل افزودنی از جمله اسید آسکوربیک، تغییر غلظت عامل شلات‌کننده و pH جهت بهینه‌سازی شرایط نشان‌دارسازی مورد ارزیابی قرار گرفت. شناسایی و تشخیص محصولات شیمیایی به وسیله‌ی طیف‌سنجی‌های مادون قرمز (FTIR) و رزونانس مغناطیسی هسته (NMR) انجام گرفت. میزان نشان‌دارسازی کمپلکس در دمای آزمایشگاه ۹۳٪ برآورد شد. رادیوداروی نوین ^{99m}Tc -MAX با خلوص رادیونوکلیدی و رادیوشیمیایی بالاتر از ۹۰٪ می‌تواند به عنوان یک عامل تشخیصی نوید بخش در مطالعات کلینیکی و پیش‌بالینی مورد استفاده قرار گیرد که در مطالعات آینده به آن پرداخته خواهد شد.

کلیدواژه‌ها: نشان‌دارسازی، لیگاند، متوکسی‌آمیدوزانتات (MAX)، تصویربرداری SPECT، تکنسیم- 99m

Synthesis of methoxy amido xanthate ligand and optimization of ^{99m}Tc labeling conditions as SPECT imaging agent

Z. Arab Halvaeie Bagheri¹, S.M.R. Aghamiri¹, E. Sattarzadeh Khameneh², S. Kakaei^{2*}, H. Yousefnia²

1. Radiation Application Department, Shahid Beheshti University, P.O. Box: 19839-4716, Tehran -Iran

2. Radiation Application Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, P. O. Box 11365-3486, Tehran - Iran

Research Article

Received 22.1.2022, Accepted 22.5.2022

Abstract

In the present study, the aim is to synthesize and introduce the combination of methoxy amido xanthate MAX and then label it with ^{99m}Tc radionuclide as a novel diagnostic agent for single-photon computed tomography (SPECT) imaging. A chelator-designed ligand was synthesized from a blend of chloroacetamide and xanthate in certain proportions. After that MAX ligand labeling process was performed by directly milking ^{99m}Tc from the generator ($^{99}\text{Mo} / ^{99m}\text{Tc}$). Thus, tin chloride was employed as a reducing agent, and the effect of parameters such as additives like ascorbic acid, changing the concentration of the cheating agent, and pH were evaluated to optimize the labeling conditions. The product was then identified by infrared spectroscopy (FTIR) and magnetic resonance imaging (NMR). Labeling of the complex at laboratory temperature was determined to be 93%. The new ^{99m}Tc -MAX radiopharmaceutical with a radionuclide and radiochemical purity of over 90% can be used as an encouraging diagnostic agent in clinics and preclinical studies, which will be addressed in future studies.

Keywords: Labeling, Chelator, Methoxy amido xanthate (MAX), SPECT, Technetium-99m



۱. مقدمه

یکی از روش‌های تشخیصی و درمانی ارزشمند در طب، پزشکی هسته‌ای است. حیاتی‌بودن روش‌های تشخیصی و درمانی که بر پایه پزشکی هسته‌ای و رادیوداروهای مربوط به آن است، موجب شده که تمام کشورهای پیش‌رو در علم پزشکی منابع و تجهیزات لازم در تولید این داروهای ارزشمند را در داخل کشور خود ایجاد کنند، چراکه کمبود یا دسترسی نداشتن به این داروها به صورت روزانه زندگی هزاران انسان را با خطر مواجه می‌کند [۱].

توانایی ردیابی مولکول‌هایی خاص در مکان‌های مشخص آناتومیک در موجودات زنده، تصویربرداری مولکولی (MI) نامیده می‌شود که پزشکی هسته‌ای شاخه‌ای از آن می‌باشد. تصویربرداری مولکولی می‌تواند در شناخت مسیرهای متابولیک، ساختار بافت‌ها و مطالعه حیوانات کوچک به کار گرفته شود [۲].

رادیوداروها محصولات رادیواکتیوی هستند که در پزشکی برای تشخیص و درمان بیماری‌ها به کار می‌روند. رادیوداروها زیرمجموعه‌ای از رادیویوتوپ‌ها هستند که بالغ بر ۳۰ سال است در حوزه پزشکی و دارو کاربرد دارند [۳].

کاربرد گسترده‌ی رادیوداروها به منظور شناسایی زود هنگام تغییرات پاتولوژیک، فیزیولوژیک و بررسی آناتومیک بافت‌های گوناگون بدن حایز اهمیت می‌باشد. در این بین توسعه‌ی رادیوداروهای مبتنی بر رادیوفلزات در حال حاضر سهم بسزایی را در تشخیص و درمان بیماری‌هایی از قبیل بیماری‌های عفونی، سرطانی، عصبی و قلبی عروقی ایفا می‌کند [۳، ۴].

ترکیبات نشان‌دار مبتنی بر رادیوفلزات عمدتاً از چهار بخش تشکیل شده‌اند که شامل مولکول زیستی (حامل)، اتصال‌دهنده، عامل شلات‌کننده و رادیو فلز می‌باشند. مولکول حامل نوعی بیومولکول مانند پپتید، آنتی بادی و . . . می‌باشد به طوری که میل شدیدی به ایجاد پیوند با گیرنده‌های سطح سلولی (به ویژه سلول‌های توموری) دارند، علاوه بر این به شکل ویژه به عنوان حامل رادیو اکتیو و تحویل آن به بخش و اندام خاص عمل می‌کنند [۴].

بسته به نیاز بالینی (تشخیص یا درمان بیماری) رادیونوکلیدهای گسیل‌کننده گاما و پوزیترون، به منظور اهداف تصویربرداری مورد استفاده قرار می‌گیرند. همچنین از رادیونوکلیدهای الکترون و آلفا گسیل جهت کاربردهای درمانی استفاده می‌شود. امروزه ^{99m}Tc به عنوان یک رادیونوکلید انتخابی در بسیاری از کاربردهای تشخیصی و تصویربرداری مورد

استفاده قرار می‌گیرد [۲]. رادیوداروهای مبتنی بر ^{99m}Tc با در نظر گرفتن ویژگی‌های ایده‌آلی از قبیل نیمه‌عمر ۶ ساعت، فوتون‌هایی با انرژی ۱۴۰ keV، خلوص رادیوشیمیایی بالا، حداقل زمان نشان‌دارسازی (۱۰-۳۰ min)، قابلیت دسترسی در محل و تولید آسان از طریق ژنراتور ($^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$) و اثرات بیولوژیکی قابل توجه (حداکثر جذب در اندام هدف، فارماکوکینتیک مطلوب) بیش از ۸۰٪ از موارد پزشکی هسته‌ای تشخیصی را به خود اختصاص داده‌اند [۴، ۵].

بسیاری از ترکیبات نشان‌دار با ^{99m}Tc که در پزشکی هسته‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند توسط عوامل شلات‌کننده تهیه می‌شوند. عامل شلات‌کننده نوعی ترکیب شیمیایی است که دارای اتم‌هایی با جفت الکترون‌های آزاد جهت به اشتراک گذاشتن با رادیوفلز و تشکیل کمپلکس فلزی می‌باشد. در موارد متعددی مشاهده شده است که اتم‌های نیتروژن، اکسیژن و گوگرد به عنوان اتم‌های دهنده‌ی جفت الکترون آزاد در شلاتورها عمل می‌کنند [۶].

امروزه با وجود شلاتورهای متعدد توسعه یافته و مورد استفاده در پزشکی هسته‌ای، همواره تلاش برای توسعه و تهیه‌ی ترکیبات نوین با پایداری بهتر، نشان‌دارسازی آسان‌تر و فارماکوکینتیک مناسب‌تر ادامه دارد. از آنجایی که «سنتز شیمیایی» برای انجام یک یا چند واکنش به منظور تولید یک یا چند فراورده استفاده می‌شود، می‌توان با انتخاب ترکیباتی شناخته شده به عنوان واکنش‌دهنده شروع شود. انواع مختلفی از واکنش‌های شیمیایی را می‌توان روی این ترکیبات انجام داد تا بتوان یک فراورده خاص را تهیه یا به اصطلاح سنتز کرد. نمونه‌ای از روش‌های مذکور سنتز آلی که منجر به تولید و ساختار ترکیبات آلی می‌شود و همچنین سنتز معدنی که در آماده‌سازی ترکیباتی با منشأ معدنی استفاده می‌شود [۷]. در این پژوهش سنتز ترکیب آلی MAX به عنوان یک عامل شلات‌کننده جدید برای اولین بار در کشور طراحی و سنتز آن محقق شد.

سپس خصوصیات پایداری و میزان نشان‌دارسازی آن به‌وسیله رادیونوکلید تکنسیم مورد بررسی قرار گرفت.

در گذشته، با توجه به علاقه‌مندی به سنتز ترکیبات دارویی [۸، ۹] تهیه و شناسایی ترکیبات نشان‌دار جهت اهداف تشخیصی و درمانی و همچنین کاربرد این مواد به عنوان حامل در سیستم‌های تحویل داروی هدفمند مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است [۱۰-۱۲].

1. Molecular Imaging

2. Chemical Synthesis



نتایج حاصل از طیف مادون قرمز مربوط به محصول فوق به صورت زیر تفسیر گردید. قله مشاهده شده در ناحیه $2900-2990 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاش‌های کششی پیوند C-H است. همچنین، قله قوی ظاهر شده در 1087 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوند C=S است. قله‌های جذبی قابل مشاهده در نواحی 1052 cm^{-1} و 550 cm^{-1} به ترتیب مربوط به ارتعاش کششی نامتقارن و متقارن C-O می‌باشند.

۳.۲ سنتز MAX

لیگاند نوین طراحی شده MAX از واکنش بین دو ماده کلرواستامید و زانتات در حلال آب تهیه شد. لیگاند شامل اتم‌های اکسیژن، گوگرد و نیتروژن به عنوان اتم‌های دهنده جفت الکترون آزاد می‌باشد. نمای شماتیک آن در شکل ۱ ارائه شده است.

میزان ۲/۳ گرم از ماده کلرواستامید (۲) در ۴۰ سی‌سی آب همچنین ۳/۶ گرم از ماده زانتات (۱) نیز در ۴۰ سی‌سی آب حل شد. سپس دو ماده در حال هم‌زدن و به صورت قطره قطره به یکدیگر اضافه شدند و محلول به رنگ زرد شفاف درآمد. از اولتراسونیک به عنوان منبع گرمایی استفاده گردید. پس از گذشت حدود ۱۵ دقیقه از شروع واکنش، محلول کدر شده و رسوبات شیری رنگی در آن ایجاد شد. به منظور بررسی خلوص رادیوشیمیایی محصول به دست آمده از تکنیک کروماتوگرافی لایه نازک و کاغذ واتمن به عنوان فاز ساکن استفاده شد. همچنین مخلوط حلالی EA:PE (پترولیوم اتر: اتیل استات) به نسبت ۴:۱ به عنوان فاز متحرک مورد استفاده قرار گرفت [۵]. نتایج حاصل از تست TLC طی ۶ مرحله و هریک به فاصله نیم ساعت از یکدیگر حاکی از وجود مواد اولیه علاوه بر محصول در ویال واکنش می‌باشد. در حالی که سه ساعت پس از شروع واکنش، به تدریج لکه‌ی حاصل از مواد اولیه از بین رفت و واکنش کامل شد. به منظور استخراج محصول به دست آمده محتویات حاوی ویال شامل رسوبات سفید و شیری رنگ به قیف دکانتور منتقل و با استفاده از حلال دی‌کلرومتان با میزان ۳۰، ۲۰ و ۲۰ میلی‌لیتر شست‌وشو داده شدند. فازهای آبی و آلی جدا شد و سپس فاز آلی چندین مرتبه با آب استخراج گردید و به آن نمک سولفات سدیم افزوده گشت تا آب‌گیری از آن انجام شود. پس از صاف شدن محلول حاصله، توسط پمپ خلأ حلال‌زدایی شد و رسوبات بلوری سفید رنگ با نقطه ذوب بین $118-120^\circ \text{C}$ تشکیل شدند.

با توجه به اهمیت توسعه ترکیبات نشان‌دار نوین تشخیصی جهت تصویربرداری به روش SPECT از یکسو و همچنین جایگاه تکنسیم- 99m جهت توسعه چنین ترکیباتی، در این پژوهش در راستای توسعه‌ی ترکیبات نشان‌دار جهت کاربردهای تشخیصی، لیگاند طراحی شده نوین MAX سنتز و سپس نشان‌داری آن با 99mTc همچنین اثر پارامترهای مختلف بر روی میزان نشان‌داری مورد بررسی قرار گرفته و بهینه‌سازی شد. ضمن این که ترکیب نشان‌دار نوین MAX- 99mTc به عنوان یک ترکیب نشان‌دار تشخیصی نوید بخش معرفی می‌گردد.

۲. روش کار

۱.۲ مواد و تجهیزات

کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه شامل کلرواستامید (Chloroacetamide)، اتانول (Ethanol)، پتاسیم هیدروکسید (Potassium hydroxide)، CS_2 (Carbondisulfide) از شرکت Merck آلمان خریداری و بدون هیچ فرایند خالص‌سازی مورد استفاده قرار گرفتند. جهت شناسایی مواد سنتز شده طیف‌سنجی مادون قرمز (VECTOR ۲۲ FT-IR Spectrometer) و طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته (NMR, Bruker-DRX-300 MHz) استفاده شد. 99mTc به شکل پرتکنات و از طریق دوشیدن ژنراتور ($99\text{Mo}/99\text{mTc}$) شرکت پارس ایزوتوپ توسط نرمال سالین تهیه شد. از تکنیک کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) جهت تعیین خلوص رادیوشیمیایی و کاغذ ITLC-SG شرکت واتمن به عنوان فاز ساکن و دستگاه خوانش کاغذ کروماتوگرافی نشان‌داری استفاده شد.

۲.۲ سنتز زانتات (Xanthate)

جهت تهیه ترکیب زانتات، ۱۰۰ گرم KOH داخل بالن ریخته و ۳۰۰ میلی‌لیتر متانول در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قطره قطره به آن افزوده شد. پس از تکمیل فرایند انحلال، دمای واکنش روی ۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم و سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر از CS_2 به آن افزوده شد. به این ترتیب نمک پتاسیم زانتات (۱) به شکل کریستال زرد رنگ با بازده ۹۴٪ تشکیل شد که با استفاده از دی‌اتیل اتر و اتانول داغ کریستال‌گیری از ماده به دست آمده انجام می‌پذیرد و به مدت زمان یک شبانه روز تحت لامپ UV خشک گردید. کریستال‌های زرد رنگ با نقطه ذوب بین $226-224^\circ \text{C}$ تشکیل شدند.



واکنش نشان‌دارسازی، کاغذ کروماتوگرافی خشک شد. سپس هر یک از آن‌ها به طور جداگانه در مخزن کروماتوگرافی قرار داده شدند. فاز متحرک مورد استفاده جهت انجام آنالیز کنترل کیفی از طریق طراحی آزمایش و با توجه به خصوصیات شیمیایی کیت مذکور از دو سیستم حلال متفاوت شامل: نرمال سالین ۰/۹٪، استون: متانول (۵۰:۵۰) بود. با توجه به خصوصیات کلوییدی و هم‌چنین وجود قطبیت در ساختار سیستم حلال سوم ۱۵٪ H_2PO_4 به عنوان فاز متحرک مورد استفاده قرار گرفت.

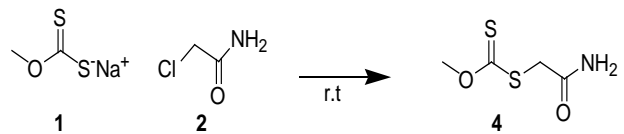
بررسی خلوص رادیونوکلیدی ^{99m}Tc از طریق قرار دادن یک میکروکوری از ^{99m}Tc در دستگاه گاما اسپکتروسکوپی انجام گرفت.

۳. نتایج

۱.۳ شناسایی لیگاند MAX

۱.۱.۳ طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)

طیف مادون قرمز لیگاند شلات‌کننده در شکل ۲ ارائه شده است. پیک مشاهده شده در ناحیه $2900-2800\text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاش‌های کششی پیوند C-H است. هم‌چنین، پیک قوی ظاهر شده در 1650 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوند $C=O$ گروه آمیدی است. پیک‌های جذبی قابل مشاهده در نواحی 1100 cm^{-1} و 750 cm^{-1} به ترتیب مربوط به ارتعاش کششی نامتقارن و متقارن CS_2 می‌باشند. پیک مربوط به گروه‌های عاملی آمین آزاد (NH_2) نیز در ناحیه 3350 cm^{-1} ظاهر شده است. افزون بر این پیک مربوط به ارتعاش پیوند C-N در 1250 cm^{-1} ظاهر شده است. وجود پیک‌های گزارش شده نشانگر سنتز شلاتور MAX بوده است [۱۴].



شکل ۱. شماتیک سنتز و ساختار ترکیب متوکسی آمیدو زانتات (۴).

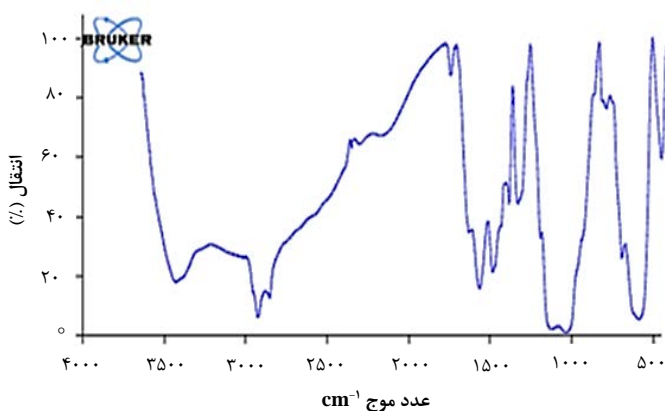
۴.۲ نشان‌دارسازی با ^{99m}Tc

در این پروژه میزان ۴-۱ میلی‌گرم از لیگاند MAX در ۱ میلی‌لیتر آب حل شد. سپس به آن مقدار ۵۰ میکرولیتر از محلول قلع کلرید (۱۰ میلی‌گرم، ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ مولار) به صورت قطره قطره و به منظور بررسی اثر افزودنی اسید آسکوربیک به عنوان یک عامل شناخته شده کاهنده یا الکترون دهنده [۱۳] به ویال واکنش اضافه شد. به طوری که یکی از آن‌ها شامل ۱۰ میکرو لیتر از محلول اسیدآسکوربیک (۱۸ میلی‌گرم، ۱۰ میلی‌لیتر آب) و دیگری بدون افزودن محلول مذکور مورد ارزیابی قرار گرفتند. از ۱/۲ میلی لیتر بافر فسفات به منظور تنظیم pH محلول در محدوده ۵ تا ۸ استفاده شد. تکنسیم- ^{99m}Tc از واپاشی مولیبدن-۹۹ در یک ستوم آلومینیم اکسید در ژنراتور مولیبدن-تکنسیم به شکل شیمیایی پرتکننتا سدیم به صورت مستقیم از ژنراتور دوشیده شد و در دمای اتاق با استفاده از محلول سالین نرمال رقیق‌سازی انجام شد. در نهایت ۲۲ میلی کوری از $^{99m}TcO_4^-$ دوشیده شده از ژنراتور ($^{99}Mo/^{99m}Tc$) به ویال واکنش افزوده شد. آنکوباسیون مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه صورت گرفت. سپس محلول از یک فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده شد. اتصال تکنسیم به لیگاند مورد نظر و یا همان بازده نشان‌دارسازی به روش کروماتوگرافی لایه نازک تعیین گردید. بدین ترتیب که مقدار مشخصی از محصول واکنش برای روی کاغذ لکه‌گذاری و در فاز متحرک قرار گرفت. از سه حلال نرمال سالین، مخلوط استون: متانول و اسید فسفریک ۱۵٪ به عنوان فاز متحرک استفاده شد.

۵.۲ تعیین خلوص رادیوشیمیایی و رادیونوکلیدی

به منظور بررسی و تعیین خلوص رادیوشیمیایی پرتکننتا آزاد از مخلوط حلالی (استون/ ۲N HCl) به نسبت (۸۰:۲۰) قبل از این که به کیت سرد MAX افزوده شود، مسقیماً بر روی کاغذ سیلیکاژل به میزان ۵μL لکه‌گذاری شد.

هم‌چنین خلوص رادیوشیمیایی ترکیب نشان‌دار ^{99m}Tc -MAX پس از لکه‌گذاری روی هر کاغذ ITLC-SG (۱۲ سانتی متر) به عنوان فاز ساکن با ۵ میکرولیتر از مخلوط



شکل ۲. طیف مادون قرمز شلاتور MAX.



۲.۱.۳ طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته (NMR)

طیف ^1H NMR و ^{13}C NMR مربوط به کمپلکس متوکسی‌استامیدوزانتات در شکل ۳ ارائه شده است. همان‌طور که در طیف مشاهده می‌گردد پیک موجود در ناحیه‌ی ppm ۱/۴۴ مربوط به گروه CH_2 متصل به CH_2 می‌باشد. پیک مشاهده شده در ppm ۳/۸۵ مربوط به CH_2 متصل به گوگرد است. در نواحی ppm ۵/۷۷ و ppm ۶/۲۷ پیک‌هایی قابل مشاهده است که مربوط به هیدروژن‌های گروه NH_2 می‌باشد. افزون بر این پیک مشاهده شده در ppm ۴/۶۶ مربوط به CH_2 متصل به CH_2 است، در ppm ۷/۲۶ پیک مربوط به حلال CDCl_3 ظاهر شده است. پیک‌های موجود در طیف رزونانس مغناطیسی هسته‌ای سنتز مولکول شلات‌کننده MAX را تأیید می‌کند.

طیف ^{13}C NMR مربوط به کمپلکس متوکسی‌استامیدوزانتات

به شرح ذیل می‌باشد:

۳۸/۶۸ ppm مربوط به گروه متیلن متصل به اتم گوگرد،

۷۱/۱۰ ppm مربوط به متیل متصل به اتم اکسیژن،

۱۶۹/۸۴ ppm مربوط به گروه کربونیل،

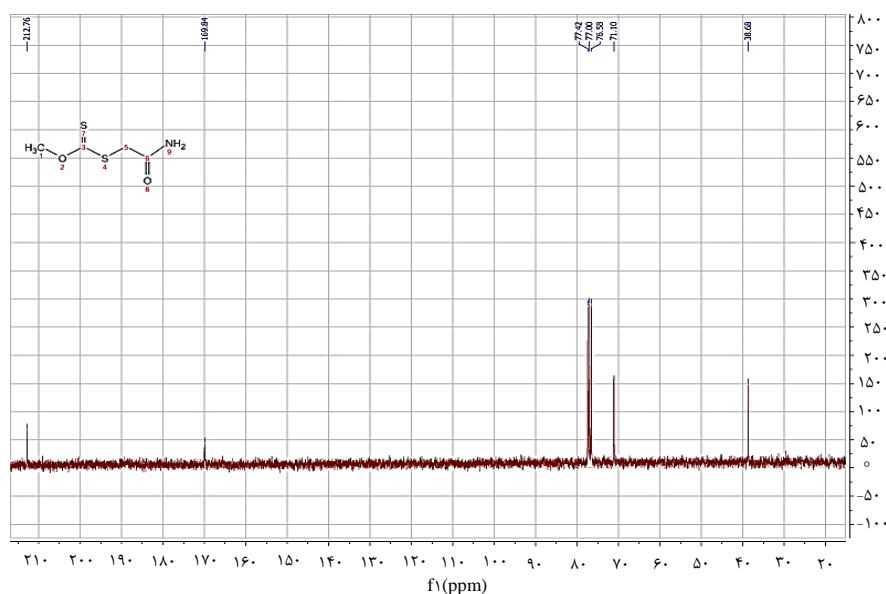
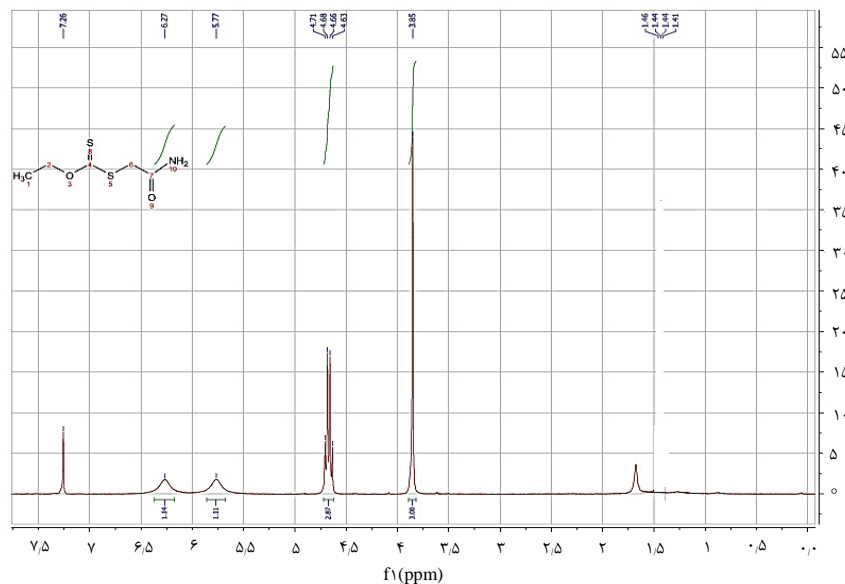
۲۱۲/۷۶ ppm مربوط به گروه تیوکربونیل می‌باشد.

۲.۳ نشان‌دارسازی لیگاند MAX با $^{99\text{m}}\text{Tc}$ و کنترل کیفی

شرایط و پارامترهای تأثیرگذار بر فرایند نشان‌دارسازی لیگاند

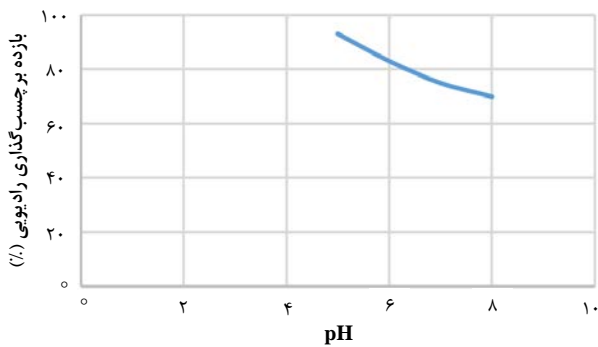
MAX به روش مستقیم با $^{99\text{m}}\text{Tc}$ به منظور برآورد حداکثر

خلوص رادیوشیمیایی به شرح زیر می‌باشد:



شکل ۳. طیف ^1H NMR و ^{13}C NMR شلاتور MAX.





شکل ۵. تأثیر میزان pH در بازده نشان‌دارسازی.

۳.۲.۳ تأثیر افزودن اسید اسکوربیک

از آن‌جا که ممکن است رادیوداروهای ^{99m}Tc در حین آماده‌سازی، ترشح و ذخیره‌سازی، دچار رادیولیز خودکار گردند بنابراین استفاده از یک مکمل و یا تثبیت‌کننده برای به حداقل رساندن رادیولیز اتوماتیک بسیار مهم است. تثبیت‌کننده‌های رادیولیتیک اغلب آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند اسید اسکوربیک، اسید جنتیسیک و اسید p-amino benzoic هستند [۱۸]. در این مطالعه، اسید اسکوربیک به عنوان یک عامل مکمل برای بهبود درصد نشان‌دارسازی استفاده شد. اسید اسکوربیک می‌تواند فرایند کاهش را تسهیل کند و از این‌رو باعث افزایش بازده فرایند نشان‌دارسازی گردد.

۳.۳ ارزیابی خلوص رادیوشیمیایی (RCP)

خلوص رادیوشیمیایی (RCP) ^{99m}Tc -MAX با استفاده از تکنیک کروماتوگرافی لایه نازک و به وسیله Silica gel TLC با استفاده از سه سیستم حلالی مختلف مورد سنجش قرار گرفت.

میزان نشان‌دارسازی لیگاند MAX با ^{99m}Tc در حلال‌های سالین (شکل ۶)، استون: متانول (۵۰:۵۰) (شکل ۷) و H_3PO_4 ۱۵٪ (شکل ۸) به عنوان فاز متحرک، ارایه شده است. همچنین شکل ۹ بیانگر میزان خلوص رادیوشیمیایی ^{99m}Tc دریافتی از ژنراتور و بررسی خلوص رادیوشیمیایی آن با استفاده از ترکیب ۲۰:۸۰ HCl:Acetone می‌باشد.

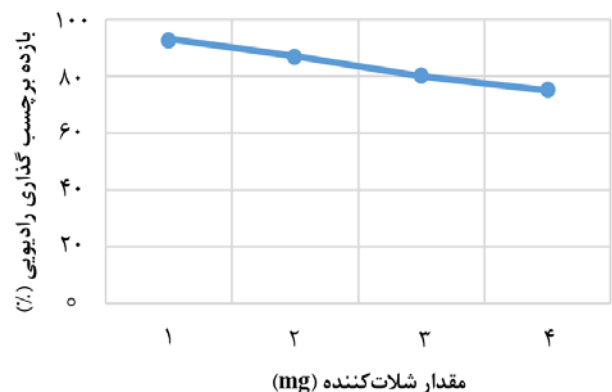
در حلال سالین و مخلوط استون: متانول (۵۰:۵۰) کمپلکس تهیه شده به همراه $^{99m}\text{TcO}_4^-$ در R_f پایین (۰/۲۹-) و در مبدأ باقی می‌ماند و پرتکتنتات آزاد در R_f های بالاتر (۰/۸۶) ظاهر شده است. اما در حلال H_3PO_4 ۱۵٪ کمپلکس به همراه پرتکتنتات آزاد به R_f بالاتر منتقل شد (۰/۷۷) و $^{99m}\text{TcO}_4^-$ در مبدأ باقی ماند (۰/۱۳).

۱.۲.۳ تأثیر میزان غلظت شلاتور

اثر غلظت لیگاند مورد استفاده در خلوص رادیوشیمیایی محصول (راندمان نشان‌دارسازی) در شکل ۴ ارایه شده است. در غلظت‌های پایین MAX، میزان نشان‌دارسازی بالاتر است. این در حالی است که با افزایش میزان غلظت عامل شلات‌کننده از ۱ میلی‌گرم به ۲۰ میلی‌گرم، کاهش میزان نشان‌دارسازی قابل مشاهده است که ممکن است در نتیجه‌ی این واقعیت رخ داده باشد که ۱ میلی‌گرم MAX برای گرفتن کل یون‌های تکنسیم موجود در ویال واکنش کافی بوده در نتیجه بازده نشان‌دارسازی به حداکثر مقدار خود یعنی ۹۳٪ رسیده است [۱۵].

۲.۲.۳ تأثیر میزان pH

شکل ۵ بیانگر اثر pH واکنش بر میزان خلوص رادیوشیمیایی ^{99m}Tc -AcX با تغییر مقادیر pH در محدوده‌ی ۵-۸ و تنظیم آن به وسیله‌ی بافر فسفات می‌باشد. حداکثر میزان نشان‌دارسازی در pH بین ۵ تا ۶ به میزان ۹۳٪ حاصل شد. با افزایش pH، خلوص رادیوشیمیایی و راندمان نشان‌دارسازی به طور قابل توجهی کاهش یافت و این بدین علت است که در غلظت‌های بالاتر OH و محدوده قلیایی کمپلکس به صورت جزئی هیدرولیز شده و همچنین منجر به اکسیداسیون $^{99m}\text{Tc}^{5+}$ به پرتکتنتات می‌گردد [۱۶]. این در حالی است که در محدوده pH های کم‌تر از ۵ بازده نشان‌دارسازی ناچیز بود. این بدان معنی است که هیچ مقدار قابل اندازه‌گیری از ^{99m}Tc -MAX وجود ندارد. فقط پرتکتنتات آزاد و بدون تشکیل پیوند مؤثر با لیگاند توسط قلع کلرید کاهش یافته است [۱۷]. همچنین در محیط اسیدی‌تر پروتونه شدن اتم‌های الکترون‌دهنده، ممکن است مانع تشکیل کمپلکس مورد نظر شود.



شکل ۴. تأثیر غلظت عامل شلات‌کننده در بازده نشان‌دارسازی.



در این حلال تکنسیم آزاد به طور کامل با حلال شسته شده و در R_f های بالاتر قرار می‌گیرد. با توجه به کروماتوگرام‌های به دست آمده در حلال‌های متفاوت، میزان نشان‌دارسازی و خلوص رادیوشیمیایی کمپلکس تهیه شده، بالغ بر ۹۳٪ تخمین زده شد.

۱.۳.۳ ارزیابی خلوص رادیونوکلیدی

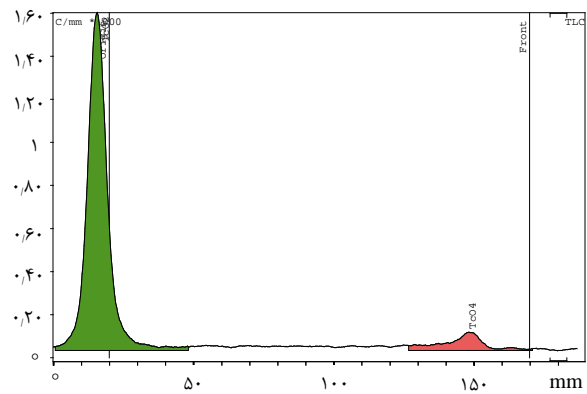
خلوص رادیونوکلیدی ترکیب $^{99m}\text{TcO}_4^-$ با استفاده از آشکارسازهای HPGe و سوسوزن مایع ارزیابی شد. به ازای هر mCi از ^{99m}Tc ناخالصی‌های موجود در نمونه مطابق با جدول ۱ مشاهده شد. تمامی بررسی‌ها طبق روش USP 40-NF 35 انجام گرفت و نمونه تمامی آنالیزهای مورد نظر روش مذکور را با موفقیت طی کرد.

۴. بحث

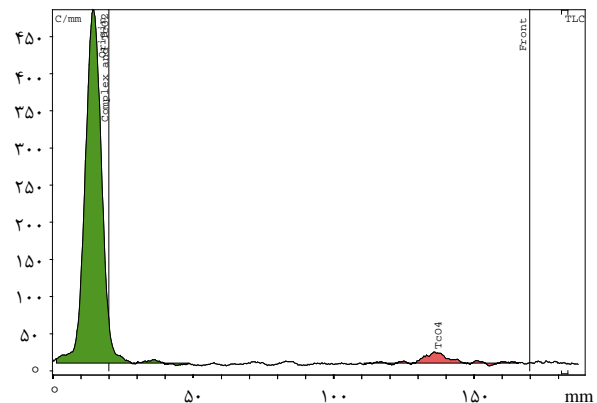
سنتز ترکیبات نشان‌دار نوین زمینه عمده مورد توجه در پزشکی هسته‌ای می‌باشد. بسته به نیاز بالینی، انتشار گاما یا پوزیترون، رویکردهای نشان‌دارسازی، سینتیک و اجزای مؤثر در تشکیل کمپلکس کوئوردینانسی، انواع رادیوایزوتوپ‌ها به منظور تولید رادیوداروها بررسی شده‌اند. به طوری که ردیاب‌های رادیواکتیو به عنوان اجزای اصلی بررسی عملکرد ارگان‌های مختلف بدن شناخته می‌شوند. بسیاری از ترکیبات نشان‌دار برای اهداف تصویربرداری در دسترس بوده که از نظر خصوصیات فیزیکی، پراکنش زیستی و قرار گرفتن در معرض اشعه به گونه‌ای متفاوت عمل می‌کنند [۲]. در حال حاضر اکثر رادیوداروهایی که در پزشکی هسته‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند، مبتنی بر رادیوفلزات می‌باشند. در این بین به طور عمده در تهیه‌ی ردیاب‌های تشخیصی از رادیونوکلید ^{99m}Tc به واسطه‌ی بهره‌مندی از خواص فیزیکی و شیمیایی ویژه آن استفاده می‌گردد. افزون بر این عوامل شلات‌کننده به عنوان پیش‌شرط‌های مورد نیاز نشان‌دارسازی مولکول‌های زیستی با رادیونوکلیدهای فلزی هستند [۵].

جدول ۱. خلوص رادیونوکلیدی تکنسیم حاصل از ژنراتور

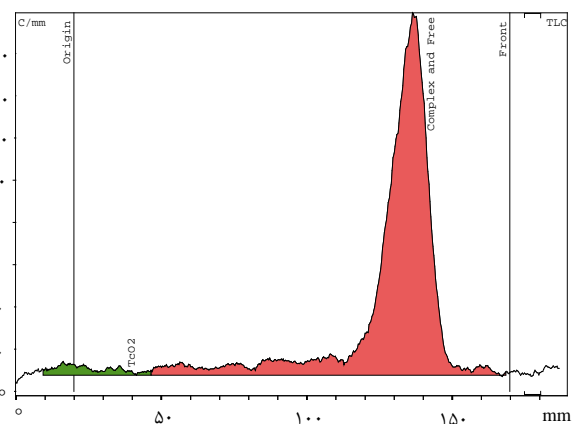
$\leq 0.15 \mu\text{Ci}$	^{99}Mo per mCi ^{99m}Tc
$\leq 0.05 \mu\text{Ci}$	^{131}I per mCi ^{99m}Tc
$\leq 0.05 \mu\text{Ci}$	^{102}Ru per mCi ^{99m}Tc
$\leq 0.0006 \mu\text{Ci}$	^{89}Sr per mCi ^{99m}Tc
$\leq 0.0006 \mu\text{Ci}$	^{90}Sr per mCi ^{99m}Tc
$\leq 0.001 \mu\text{Ci}$	gross alpha impurity per mCi ^{99m}Tc
$\leq 0.1 \%$	of all other beta and gamma emitters



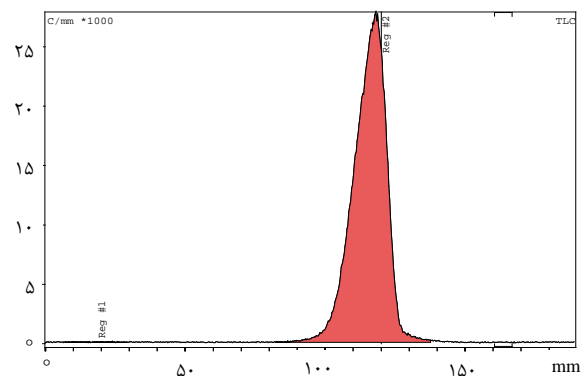
شکل ۶. کروماتوگرام حاصل از ^{99m}Tc -MAX در فاز متحرک سالین.



شکل ۷. کروماتوگرام ^{99m}Tc -MAX در فاز متحرک استون: متانول (۵۰:۵۰).



شکل ۸. کروماتوگرام ^{99m}Tc -MAX در فاز متحرک ۱۵٪ H_3PO_4 .



شکل ۹. کروماتوگرام پرتکنات آزاد در فاز متحرک ۲۰:۸۰ HCl:Acetone.



مراجع

1. S.M. Ghoreishi, et al., *Technetium-99m chelator-free radiolabeling of specific glutamine tumor imaging nanoprobe: in vitro and in vivo evaluations*, *Int. J. Nanomedicine*, **13**, 4613 (2018).
2. A. Boschi, L. Uccelli, P. Martini, *A picture of modern Tc-99m radiopharmaceuticals: Production, chemistry, and applications in molecular imaging*, *Appl. Sci.*, **9**, 2526 (2019).
3. D. Sarko, et al., *Bifunctional chelators in the design and application of radiopharmaceuticals for oncological diseases*, *Current Medicinal Chemistry*, **19**, 2667-2688 (2012).
4. C.F. Ramogida, C. Orvig, *Tumour targeting with radiometals for diagnosis and therapy*, *Chemical Communications*, **49**, 4720-4739 (2013).
5. M.U. Akbar, et al., *A review on evaluation of technetium-99m labeled radiopharmaceuticals*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **310**, 477-493 (2016).
6. S.J. Flora, V. Pachauri, *Chelation in metal intoxication*, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **7**, 2745-2788 (2010).
7. F.A. Carey, R.J. Sundberg, *Part B: Reactions and Synthesis*, (Springer, 2013).
8. Z. Pourmanouchehri, et al., *Magnetic Nanocarrier Containing 68 Ga-DTPA Complex for Targeted Delivery of Doxorubicin*, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, **28**, 1980-1990 (2018).
9. S. Kakaie, et al., *Targeted Drug Delivery of Teniposide by Magnetic Nanocarrier*, *Current Nanoscience*, **16**, 608-616 (2020).
10. E. Sattarzadeh, et al., *68 Ga-radiolabeled magnetic nanoparticles for PET-MRI imaging*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **317**, 1333-1339 (2018).
11. H. Tayeri, et al., *Optimized production, quality control and biological assessment of 68-Ga-bleomycin as a possible PET imaging agent*, *International Journal of Radiation Research*, **18**, 237-241 (2020).
12. E.S. Khameneh, et al., *Preparation of dual-modality yttrium-90 radiolabeled nanoparticles for therapeutic investigation*, *Radiochimica Acta*, **106**, 897-907 (2018).
13. M. Korany, et al., *Synthesis and radiolabeling of vitamin C-stabilized selenium nanoparticles as a promising approach in diagnosis of solid tumors*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **325**, 237-244 (2020).
14. L. Little, G. Poling, J. Leja, *Infrared spectra of xanthate compounds: II. Assignment of vibrational frequencies*, *Canadian Journal of Chemistry*, **39**, 745-754 (1961).
15. M. Motaleb, et al., *Synthesis, radioiodination and biological evaluation of a novel phthalimide derivative*, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **307**, 363-372 (2016).

به منظور تولید و توسعه‌ی رادیوداروی نوین $^{99m}\text{Tc-MAX}$ وجود شرایط و فاکتورهای متعددی جهت بهینه‌سازی فرمولاسیون کیت و دستیابی به شرایط بهینه‌ی نشان‌دارسازی ضروری می‌باشد. کیت مذکور شامل ماده‌ی شلات‌کننده نوین MAX، و احیاکننده قلع کلرید می‌باشد. ضمن این که در این کیت وجود ماده‌ی افزودنی اسید آسکوربیک به منظور افزایش میزان احیاکنندگی ضروری می‌باشد. شلاتور MAX با موفقیت با تکنسیم نشان‌دار گردید. و بهترین غلظت قلع کلرید ۵۰ میکرولیتر از محلول قلع کلرید (۱۰ میلی گرم، ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ مولار) و هم‌چنین ۱۰ میکرو لیتر از محلول اسیدآسکوربیک (۱۸ میلی گرم، ۱۰ میلی لیتر آب) به عنوان ماده‌ی افزودنی مورد نیاز و در pH=۵-۶ به دست آمد. با این روش غلظت نشان‌دارسازی بیش از ۹۳٪ برآورد شد.

۵. نتیجه‌گیری

در این پژوهش میزان نشان‌دارسازی لیگاند نوین MAX با ^{99m}Tc به عنوان پرکاربردترین رادیونوکلید تشخیصی مورد ارزیابی قرار گرفت. لیگاند نوین طراحی شده MAX از واکنش بین دو ماده کلرواستامید و زانتات در حلال آب تهیه شد. لیگاند شامل اتم‌های اکسیژن، گوگرد و نیتروژن به عنوان اتم‌های دهنده جفت الکترون آزاد می‌باشد.

عامل شلات‌کننده تهیه شده با غلظت $1\text{mg}/1\text{cc}$ آب به خوبی و به میزان ۹۳٪ با ^{99m}Tc در pH=۵-۶ در حضور اسید آسکوربیک و قلع کلرید نشان‌دار گردید. فاز متحرک H_2PO_4^- ۱۵٪ به عنوان بهترین فاز متحرک جهت جداسازی اجزای واکنش و تعیین میزان خلوص رادیوشیمیایی و راندمان نشان‌دارسازی تعیین گردید. رادیوداروی نوین $^{99m}\text{Tc-MAX}$ با خلوص رادیونوکلییدی و رادیوشیمیایی بالاتر از ۹۰٪ می‌تواند به عنوان یک عامل تشخیصی نوید بخش در کلینیک و مطالعات پیش‌بالینی مورد استفاده قرار گیرد که در مطالعات آینده به آن پرداخته خواهد شد.

تشکر و قدردانی

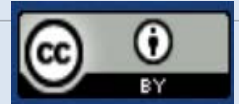
این تحقیق در قالب پروژه دانشجویی مصوب و با استفاده از اعتبارات پژوهشی پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای انجام شده است، لذا نویسندگان جهت حمایت‌های مالی و معنوی آن مرکز صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایند. نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از آقای میثم کرمی‌وند مسئول کنترل کیفی شرکت پارس ایزوتوپ به دلیل کنترل کیفی نشان‌دارسازی محصول و راهکارهای مناسب ارائه شده در جهت بهبود عملکرد انجام این پژوهش تشکر نمایند.



16. H.A. Shamsel-Din, A novel ^{99m}Tc -diester complex as tumor targeting agent: synthesis, radiolabeling, and biological distribution study, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, **63**, 376-385, (2020).
17. E. Gharepapagh, et al, Preparation, biodistribution and dosimetry study of Tc-99m labeled N-doped graphene quantum dot nanoparticles as a multimodular radiolabeling agent, *New Journal of Chemistry*, **45**, 3909-3919, (2021).
18. A.B. Hughes, Amino Acids, Peptides and Proteins in *Organic Chemistry: Volume 4-Protection Reactions, Medicinal Chemistry, Combinatorial Synthesis*. (Wiley-VCH, 2011).

COPYRIGHTS

©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.



استناد به این مقاله

زهرا عرب حلوایی باقری، سید محمودرضا آقامیری، الهام ستارزاده خامنه، سعید کاکایی، حسن یوسفنیا (۱۴۰۲)، سنتز لیگاند متوکسی آمیدو زانتات و بهینه‌سازی شرایط نشان‌دارسازی با ^{99m}Tc به عنوان عامل تصویربرداری SPECT، ۱۰۴، ۱۳-۲۱

DOI: [10.24200/nst.2022.1039.1701](https://doi.org/10.24200/nst.2022.1039.1701)

Url: https://jonsat.nstri.ir/article_1417.html

