

نشانداری رزمارینیک اسید (*Rosmarinic Acid*) پرتودیده با گالیوم-۶۷

نرجس دماوندی کمالی^۱، سعید رجبی فر^{۲*}، مرضیه حیدریه^۲

^۱ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران؛ ^۲ پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران

چکیده

عصاره گیاه رزماری، ۴ برابر آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مانند BHT و BHA خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد. رزمارینیک اسید نه تنها به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی قوی مورد توجه است بلکه خصوصیات ضدالتهابی، ضدتوموری، ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدسرطانی را نیز در پژوهش‌های مختلف نشان داده است.

هدف از این تحقیق، بررسی اثرات دما، زمان، pH و غلظت رزمارینیک اسید پرتودیده و نشانداری آن با رادیوایزوتوپ گالیوم-۶۷ به عنوان یک عامل تصویربرداری با وضوح بالا برای توموگرافی رایانه‌ای تک فوتونی است. در مطالعه حاضر، رزمارینیک اسید تحت تابش گاما با مقادیر ۲۰ و ۳۰ کیلوگری در دو غلظت ۱ و ۵ درصد با رادیوایزوتوپ گالیوم-۶۷ تولید شده در سیکلوترون کرج نشانداری و راندمان و خلوص رادیوشیمیایی آنها با هم مقایسه شد. شرایط نشانداری (از جمله pH، دما، زمان و غلظت) مورد بررسی قرار گرفتند. کنترل کیفی به وسیله کروماتوگرافی لایه نازک (RTLC) انجام گرفت. بر اساس آزمون‌های صورت گرفته، تیمار بهینه نشانداری رزمارینیک اسید پرتو دیده در سطح ۳۰ کیلوگری و غلظت ۱ درصد و pH برابر ۵/۵-۶، در زمان ۳۰ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، بالاترین راندمان و خلوص رادیوشیمیایی ۹۵٪ بدست آمد. ضمناً ماده نشانداری پایداری خوبی حتی بعد از ۱۲ ساعت از خود نشان داد.

واژه‌های کلیدی: گالیوم-۶۷، نشانداری، رزمارینیک اسید، خلوص رادیوشیمیایی

رزمارینیک اسید (α -O-caffeoyl-3,4-dihydroxyphenyl-lactic acid) یک ترکیب دی فنولیک گیاهی مستخرج شده از گیاهان خانواده برژیناسه و لامیاسه است [۱]، که در بررسی‌های مختلف مشخص شده است که مهمترین جزء تشکیل دهنده عصاره گیاه رزماری، اسید کافنیک و مشتقات رزماری مانند رزمارینیک اسید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی از خود نشان داده‌اند [۲، ۳، ۴]. در این راستا گیاهان و ترکیبات مستخرج شده از آنها انتخاب مناسبی برای ارتقاء سلامت با رویکرد بهداشتی و درمانی می‌باشند [۵، ۶]. در پژوهش‌های مختلفی نیز خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) مورد ارزیابی قرار گرفته است [۵، ۷، ۸] و مشخص شده است که عصاره گیاه رزماری ۴ برابر آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مانند BHT و BHA خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد [۹]. رزمارینیک اسید علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی [۱۰، ۱۱]، خصوصیات ضد التهابی، ضدتوموری [۱۲، ۱۳]، ضدباکتریایی و ضدویروسی [۱۴، ۱۵] را نیز در پژوهش‌های مختلف نشان داده است. خواص ضدسرطانی رزماری به تازگی و در یکی دو دهه اخیر مورد توجه محققان قرار گرفته است. در پژوهش همتا و پروینی (۱۳۹۰)، عصاره الکی گیاه رزماری، بر سلول‌های سرطانی، اثرات سمی قابل توجهی داشته است [۱۶]. در پژوهشی دیگر نشان داده شد که استفاده از عصاره گیاه رزماری با توجه به اثر وابسته آن به دوز و زمان به کارگیری بر سلول‌های سرطانی، سبب مهار رشد این سلول‌ها گردید [۱۷].

کوچک کردن سایز ذرات با استفاده از روش‌های مختلفی انجام می‌شوند که از میان آنها می‌توان به روش استفاده از پرتوهای یون‌ساز مانند گاما اشاره نمود؛ که به دلیل سادگی کاربرد و تولید ذرات بسیار خالص و پایدار مرسوم است. علاوه بر این تابش گاما یک روش پاک برای تولید الیگومرهای با وزن مولکولی کم از پلی‌ساکاریدهای طبیعی مانند کیتوزان و کاراگینان می‌باشد که به عنوان آنتی بیوتیک، آنتی‌اکسیدان و غیره کاربرد دارند [۱۸، ۱۹].

روش نشاندارسازی با استفاده از رادیوایزوتوپ‌های مختلف فرآیندی است که اغلب در پزشکی، تحقیق و توسعه علوم دارویی و مطالعات موردی محیطی استفاده می‌شود [۲۰]. یکی از رادیوایزوتوپ‌های مورد توجه در این تحقیق و مورد استفاده روزمره در پزشکی هسته‌ای، گالیوم-۶۷ (رادیونوکلئید شبه فلزی با نیمه عمر فیزیکی ۷۸/۳ ساعت و نیمه عمر بیولوژیک ۲ الی ۳ هفته)

است که به دلیل نیمه عمر مناسب و سهولت تولید، یکی از بهترین گزینه‌های رادیوایزوتوپ فلزی است. گالیوم-۶۷ با هدف استفاده در پزشکی هسته‌ای کشور در مجتمع سلامت و کشاورزی البرز در سامانه سیکلوترون ۳۰ میلیون الکترون‌ولت (Cyclon 30, IBA™ بلژیک) تولید می‌شود [۲۱]. با توجه به سابقه تولید رادیوایزوتوپ گالیوم-۶۷ در کشور و در دسترس بودن آن، ساخت ترکیبات نشاندار با استفاده از آن دارای ارزش نوآوری فراوان در سطح ملی و جهانی است [۲۲-۲۳]. همچنین پژوهش‌های فراوانی در رابطه با رادیوایزوتوپ‌های دارای الکترون اوزه مانند گالیوم-۶۷ در رابطه با برتری خواص آنها در پرتودرمانی صورت پذیرفته است. به نظر می‌رسد با توجه به برد کوتاه این الکترون‌ها، انهدام موضعی ریزاندامک‌های سلولی بدون ایجاد پراکنش پرتو اضافی بر روی سایر ریزاندامک‌های سلولی صورت می‌گیرد [۲۴].

بنابراین در این تحقیق، با توجه به چگونگی پراکنش الکترون اوزه و پرتو گاما از رادیوایزوتوپ گالیوم-۶۷ بر آن شدیم که ضمن نشاندارسازی رزمارینیک اسید، آنتی‌کسیدان گیاهی قوی، با گالیوم-۶۷ به عنوان ترکیب تشخیصی در تصویربرداری با وضوح بالا برای توموگرافی رایانه‌ای تک فوتونی (SPECT)، به بهینه‌سازی تمام شرایط واکنش مانند pH، دما، زمان و غلظت و اندازه رزمارینیک اسید و مطالعه پایداری این ترکیب پردازیم.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی و پرتوتابی رزمارینیک اسید

برگ‌های رزماری (*R. officinalis* L.) (1394/O/037) از موسسه دارویی^۱، کرج، ایران، تهیه و برگ‌ها پس از شستشو در دمای اتاق و بدون هیچ‌گونه حرارتی خشک و با یک آسیاب برقی پودر شدند. سپس برای عصاره‌گیری و سنجش رزمارینیک اسید از روش Tepe (۲۰۰۷) با اندکی تغییرات استفاده شد [۲۵]. در این روش ۱ گرم پودر برگ تهیه شده پس از توزین، به خوبی در هاون شیشه‌ای سائیده شده و سپس ۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۵۰ درصد به آن اضافه و به مدت یک ساعت در بن ماری ۷۰

¹Plants herbarium

درجه سانتی‌گراد نگهداری و پس از آن به کمک روتاری، حلال اتانول از محلول حذف و باقی‌مانده در ۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد حل می‌گردد. در این مرحله محلول به مدت ۲۴ ساعت در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و در نهایت محلول جهت فیلتر شدن، طی دو مرحله از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (Whatman no. 1, Maidstone, UK) عبور داده شده و سپس جذب نوری آن در طول موج ۳۲۷ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (مدل ROYLEIGH, UV-2601) قرائت می‌گردد. غلظت رزمارینیک اسید نمونه با کمک منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید. براساس گزارش Rezanejad و همکاران (۲۰۱۹)، در رابطه با تعیین دز مطلوب پرتوتابی عصاره گیاه رزماری، در این تحقیق نیز رزمارینیک اسید جداسازی شده تحت تابش پرتو گاما در دو سطح ۲۰ و ۳۰ کیلوگری قرار گرفت [۱۹].

۲-۲- آماده‌سازی محلول رزمارینیک اسید پرتوتابی شده

پودر رزمارینیک اسید در دو سطح ۲۰ و ۳۰ کیلوگری توسط چشمه کبالت-۶۰ (PX-30-Issiedovapel، روسیه) در یک محدوده دز ۰/۲-۰/۵ گری در ثانیه در پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران پرتوتابی شده و سپس با دو غلظت ۱ و ۵/۰ درصد با روش رقیق‌سازی در مخلوطی از حلال آب و بافر فسفات (pH = ۶/۵) تهیه گردید.

۲-۳- نشاندارسازی رزمارینیک اسید پرتوتابی شده با گالیوم-۶۷

تولید مرتب گالیوم-۶۷ در مجتمع سلامت و کشاورزی البرز توسط سامانه سیکلوترون ۳۰ میلیون الکترون‌ولت (Cyclon (IBA) 30، IBA™ بلژیک) انجام و محلول آبی گالیوم (^{67}Ga) کلراید حاصل از بمباران هدف جامد حاصل از الکتروپلیتینگ اکسید روی-۶۸ با انرژی حدود ۱۸ میلیون الکترون‌ولت بدست می‌آید [۲۶].

برای انجام نشاندارسازی، مقدار ۳۷/۵-۱۱۲/۵ مگابکرل (معادل ۳-۱ میلی‌کوری) گالیوم کلراید ($^{67}\text{GaCl}_3$) را به منظور حذف اسید کلریدریک در ویال قرار داده و با استفاده از حرارت و عبور گاز ازت خشک نموده (محیط کاملاً اسیدی $\text{pH} = ۱$) و سپس

به آن ۱ سی سی بافر فسفات ($\text{pH} = 6/5$) اضافه و اجازه داده می‌شود تا گالیوم کلراید کاملاً در آن حل گردد. به محلول فوق ۱ سی سی از سوسپانسیون حاوی رزمارینیک اسید پرتو دیده با غلظت‌های ۱ و ۰/۵ درصد در دو سطح ۲۰ و ۳۰ کیلوگری در ویال‌های جداگانه اضافه و به مدت زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه و در دماهای ۲۵، ۳۵، ۴۵، ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد با همزن مخلوط شد. پس از پایان زمان‌های در نظر گرفته شده، پس از رساندن دمای این محلول به دمای محیط، فرآورده نهایی را از یک فیلتر ۰/۲۲ میکرومتری عبور داده و pH آن را با استفاده از بافر سدیم استات ۰/۱ مولار در محدوده مناسب تنظیم گردید. لازم به ذکر است که جهت بهترین شرایط واکنش، آزمایش‌های متعددی برای تعیین مقادیر اسیدیته و غلظت رزمارینیک اسید نیز انجام گرفت.

۲-۴- کنترل کیفی با روش کروماتوگرافی لایه نازک (RTLC)

جهت تعیین راندمان نشاندارسازی و خلوص رادیو شیمیایی، از کروماتوگرافی لایه نازک رادیویی (RTLC) استفاده شد. یک نمونه ۵ میکرولیتری از هر محصول (غلظت ۱-۰/۵ درصد) در زمان‌های ذکر شده، بر روی یک کاغذ واتمن شماره ۱ (Whatman no. 1, Maidstone, UK) لکه‌گذاری و در ظرف حاوی بافرهای سدیم استات و اسید استیک ۱:۱ (به عنوان فاز متحرک) قرار داده شد. به دلیل استفاده از بافر فوق‌الذکر در این مرحله، رزمارینیک اسید نشاندارسازی شده با گالیوم-۶۷ پیوند قوی با فاز ساکن برقرار می‌کند و در $R_f = 0$ باقی می‌ماند ولی گالیوم-۶۷ آزاد توسط فاز متحرک (تا ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر) حرکت و به بالای کاغذ حرکت می‌نماید، پس از رسیدن حلال به بالای کاغذ، کاغذ واتمن از ظرف محلول خارج و خشک گردیده و توسط اسکنر کروماتوگرافی، (Washington DC, USA) AR-2000 Bioscan موجود در پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای راندمان نشاندار سازی اندازه‌گیری می‌گردد.

۳- نتایج و بحث

رزمارینیک اسید یک ترکیب قابل حل در آب است که در بسیاری از گیاهان وجود دارد. استفاده از این ماده به عنوان ردیاب طبیعی با قابلیت جذب بالا در بافت و همچنین دفع بسیار سریع آن از طریق ادرار و مدفوع در بررسی میزان پیشرفت سلول‌های توموری با استفاده از توموگرافی رایانه‌ای تک فوتونی گزارش شده است [۲۷]. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی میزان و چگونگی نشاندارسازی رزمارینیک اسید توسط رادیویزوتوپ گالیوم-۶۷ به عنوان ردیاب طبیعی در موجودات زنده طراحی شده است. به منظور انتخاب بهترین شرایط واکنش، آزمایش‌های متعددی برای تعیین پارامترهای تأثیرگذار بر میزان نشاندارسازی مانند مدت زمان واکنش، دما، غلظت و اندازه ذرات رزمارینیک اسید، و pH انجام گرفت. در شکل ۱ نتایج RTLC حاصل از رزمارینیک اسید نشاندارسازی شده با رادیویزوتوپ گالیوم-۶۷ در دو غلظت ۱ و ۰/۵ درصد و پرتوتایی شده در دو سطح ۲۰ و ۳۰ کیلوگری در مقایسه با گالیوم-۶۷ آزاد نشان داده شده است. درصد نشاندارسازی در رزمارینیک اسید پرتوتایی شده در سطح ۲۰ کیلوگری در دو سطح ۰/۵ و ۱ درصد به ترتیب، ۸۴ و ۸۶ درصد بدست آمد، در صورتی که رزمارینیک اسید با غلظت ۰/۵ درصد در سطح ۳۰ کیلوگری پرتوتایی شده، ۹۱ درصد ولی غلظت یک درصد در سطح ۳۰ کیلوگری و زمان ۳۰ دقیقه و ۵/۵ - pH = ۶ برای تشکیل پیوند مستقیم رزمارینیک اسید با رادیویزوتوپ گالیوم-۶۷ راندمان ۹۵ درصد بدست آمد. این نکته قابل توجه است که در محلول‌های آبی، pH فیزیولوژی گالیوم در حالت اکسایش +۳ است، بنابراین به منظور جلوگیری از تشکیل گالیوم هیدروکسید محلول و نامحلول که منجر به کند شدن فرایند تولید محصول نشاندار می‌شوند، واکنش در pH‌های پایین انجام می‌شود.

نانوذرات موادی با ابعادی در مقیاس نانومتر (۱۰۰-۱ نانومتر) هستند که نقش موثری در تشخیص و درمان سرطان دارند. هدف اصلی به کارگیری فناوری نانو این است که اجازه تجمع کافی و مناسب نانوذرات را در اندام یا بافت هدف مورد بررسی، صرف نظر از روش و مسیر تجویز می‌دهد و این در حالی است که اثرات سمی ناخواسته داروها را به دلیل تجویز غلظت‌های بالا محدود می‌سازد [۲۸]. به طور کلی مزایای استفاده از نانوذرات نشاندار شده با رادیویزوتوپ‌های مختلف با هدف تصویربرداری مولکولی بسیار متعدد است [۲۹]. نانوذرات نشاندار شده با رادیویزوتوپ‌ها می‌توانند به عنوان تقویت کننده سیگنال عمل کنند که منجر به افزایش شاخص‌های کنتراست و افزایش حساسیت در مقایسه با رادیو ردیاب‌های معمولی می‌شود. با توجه به دارا بودن سطوح

بیشتر نانوذرات، می‌توان آنها را با لیگاندهای مختلف برای انواع تشخیص‌های هدفمند کونژوگه کرد. مزیت سوم در توانایی نانوذرات برای ترکیب قابلیت‌های تشخیصی و درمانی توأم بر روی یک نانوپلتفرم یکسان است که باعث ایجاد مفهوم نوظهور «تحویل دارو با تصویربرداری کنترل‌شده» می‌شود [۳۰، ۳۱].

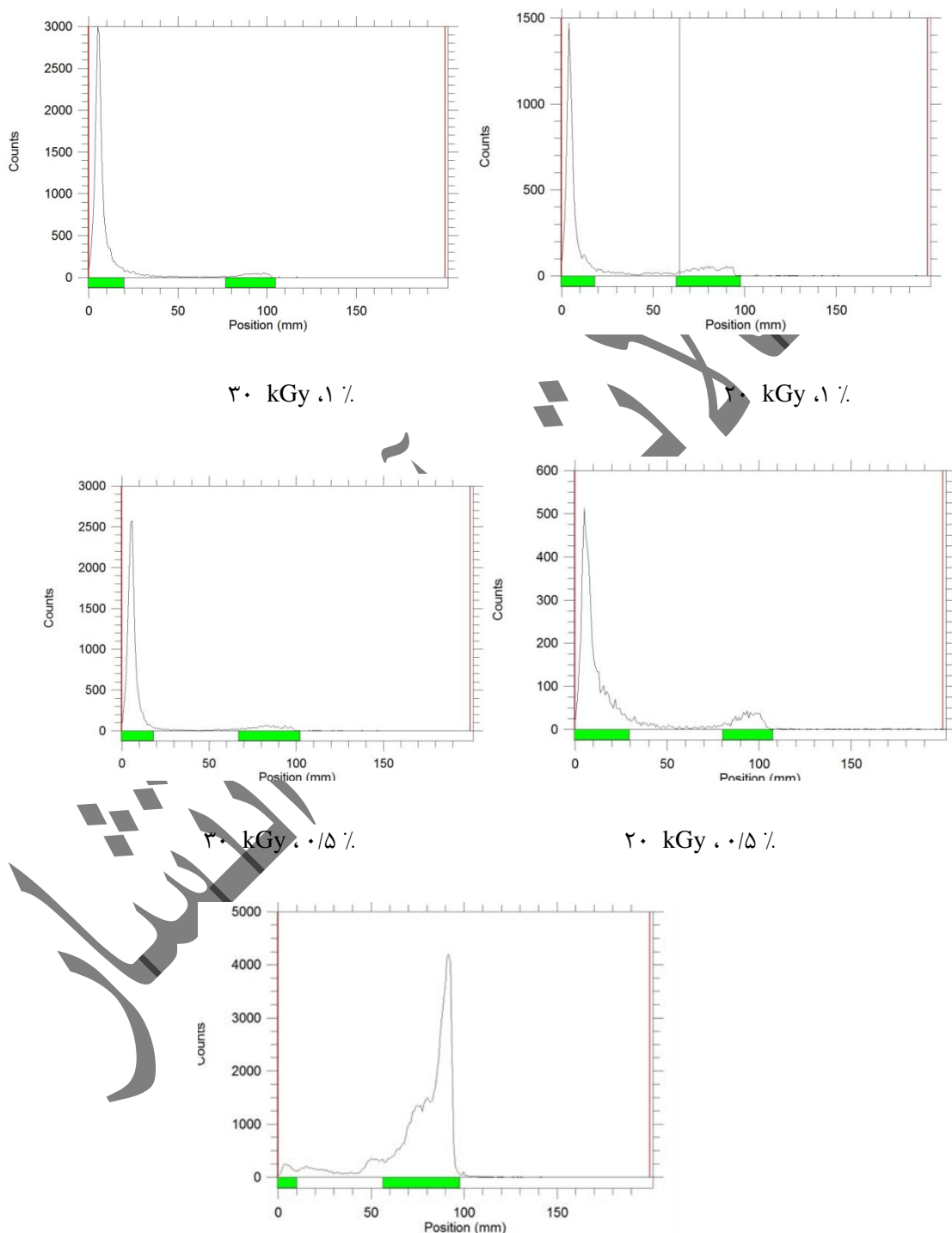
امروزه از روش‌های مختلفی برای سنتز کردن نانوذرات استفاده می‌شود که می‌توان به روش احیای شیمیایی، پلیمریزاسیون بین سطحی، تبخیر حلال، رسوب حلال، نانو رسوب، امولسیون انتشار، ژلاتینه‌سازی کنترل شده، فرآیند میکروویو و پرتوتابی اشاره کرد [۳۲]. روش پرتوتابی دارای مزایای بیشتری نسبت به روش‌های معمول دیگر است؛ این روش بسیار ساده و راحت بوده و نانوذرات فلزی بسیار خالص و پایداری ارائه می‌دهد [۳۳]. پرتودهی پلی‌ساکاریدهای طبیعی به دنبال تخریب و شکستن پیوندهای گلیکوزیدی منجر به تولید اولیگومرهایی با وزن مولکولی کم می‌شود [۳۴، ۳۵]. به طور کلی می‌توان مزایای اساسی استفاده از تخریب پلیمرها توسط پرتوها را افزایش کارایی با تغییرات فیزیکی و کمی، بدون تغییر اساسی در شیمی مواد و عدم نیاز به تجهیزات ویژه بیان داشت [۳۶].

در این مطالعه از روش پرتوتابی، دز ۳۰ کیلوگری پرتو گاما، به منظور سنتز نانوذرات رزماری با اندازه متوسط ۷۰ نانومتر و بدون ایجاد تغییر قابل توجهی در پیوندهای کلیدی و گروه‌های عاملی و همچنین با بالا بردن سطح توانایی آنتی‌اکسیدانی استفاده گردید [۱۹]. همچنین نعمت‌اللهی و همکاران (۲۰۲۰)، نانوذرات ارگوسان را با به کارگیری دو روش پرتو گاما و اولتراسونیک سنتز نمودند. طبق نتایج آنها دز ۳۰ کیلوگری پرتو گاما بهترین نتیجه را در سنتز نانوذرات با اندازه ۳۰ نانومتر به همراه داشت [۳۷]. حیدریه و همکاران (۲۰۱۴)، به منظور تشخیص اندام هدف و تعیین توزیع آناتومیکی نانوذرات آلژینیک اسید در قزل‌آلای رنگین‌کمان، آلژینیک اسید پرتوتابی شده را با گالیوم-۶۷ نشاندار کردند. راندمان نشاندارسازی بعد از زمان ۶۰ دقیقه به ۹۷ درصد رسید [۱۸]. همچنین دماوندی و همکاران (۲۰۲۱)، نانوذرات کیتوزان را با گالیوم-۶۷ نشاندار کردند. راندمان نشاندارسازی در کیتوزان با غلظت ۰/۵ درصد، بعد از زمان ۳۰ دقیقه، ۹۷ درصد به دست آمد [۳۸].

در تحقیقی مشابه، راندمان نشاندارسازی رزماریک اسید با رادیوایزوتوپ تکنسیوم-۱۹۹m (^{99m}Tc) در pH = ۴ در مدت ۱۵ دقیقه بیشتر از ۹۲/۲٪ گزارش شد [۲۷]. در مطالعه‌ای به منظور استفاده از عصاره‌های گیاهی برای کشف داروهای جدید در

تشخیص و درمان چندین بیماری، عصاره متانولی گیاه بومادران (*Achillea millefolium*) با رادیویزوتوپ ^{131}I نشاندارسازی

شد؛ بالاترین بازدهی نشاندارسازی $92/78 \pm 5/04$ درصد گزارش شد [۳۹].



گالیوم آزاد

شکل ۱: نتایج RTLC رزمارینیک اسید در ۲۰ و ۳۰ kGy و غلظت‌های ۰/۵ درصد و گالیوم آزاد

به منظور بررسی اثر زمان بر روی بازده نشاندارسازی رزمارینیک اسید، در فواصل زمانی ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۱۵ دقیقه از زمان شروع واکنش (در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد)، بازده مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱).

با توجه به اینکه بالاترین میزان نشاندارسازی در ۳۰ دقیقه پس از شروع واکنش مشاهده شد، برای بررسی اثر دما بر بازده نشاندارسازی، پس از گذشت زمان ۳۰ دقیقه از شروع واکنش، بازده واکنش اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

جدول ۱- بررسی اثر زمان واکنش بر بازده نشاندارسازی رزمارینیک اسید با رادیوایزوتوپ گالیوم-۶۷

زمان (دقیقه)	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰
بازده واکنش (%)	۸۱٪	۹۵٪	۹۰٪	۸۷٪

همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، جهت بررسی اثر دما بر بازده نشاندارسازی، واکنش در دماهای متفاوت، از دمای اتاق تا دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. نتایج که با روش کروماتوگرافی لایه نازک بدست آمد، نمایانگر این است که بازده واکنش در دمای محیط ۲۵ درجه سانتی‌گراد برابر با ۶۸٪ بود و با افزایش دما به ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد، بازده واکنش نشاندارسازی افزایش یافته است و به ترتیب به مقادیر ۹۰٪ و ۹۵٪ رسیده است. تا جایی که انجام واکنش در دمای ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب منجر به نشاندارسازی با بازده ۸۲٪، ۸۰٪ و ۷۱٪ شده است. با بالا بردن بیشتر دما، بازده واکنش نه تنها بیشتر نشد بلکه روند نزولی نیز پیدا کرده است. دما نقش بسیار حیاتی در میزان انجام واکنش نشاندارسازی دارد [۴۰]. دمای مناسب برای انجام نشاندارسازی در بالاترین سطح در این تحقیق، ۴۵ درجه سانتی‌گراد گزارش شد که دماهای پایین‌تر برای نشاندارسازی رزمارینیک اسید با رادیوایزوتوپ گالیوم-۶۷ نمی‌تواند مناسب باشد.

جدول ۲- بررسی اثر تغییرات دما بر بازده واکنش نشاندارسازی رزمارینیک اسید با رادیوایزوتوپ گالیوم-۶۷

دما (درجه سانتی‌گراد)	۲۵	۳۵	۴۵	۶۰	۷۰	۸۰
بازده واکنش (%)	۶۸	۹۰	۹۵	۸۲	۸۰	۷۱

همچنین به منظور بررسی پایداری کمپلکس تشکیل شده، پس از گذشت ۱۲ ساعت، مجدداً بررسی‌هایی بر محلول نهایی انجام شد که هیچ‌گونه تغییری در خلوص رادیوشیمیایی محلول کمپلکس نشاندار شده مشاهده نگردید که این امر نشان‌دهنده پایداری کمپلکس رادیواکتیو حاصل است. اما این نکته قابل توجه است که با افزایش زمان افزایش درصد کلونیدی را نیز خواهیم داشت که در میزان نشاندارسازی تأثیر زیادی دارد [۴۱].

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، که به منظور تهیه ترکیب رادیودارویی رزمارینیک اسید-گالیوم ۶۷ انجام گرفت، طی آزمایش‌های متعدد، شرایط بهینه انتخاب دما، غلظت، مدت واکنش و اسیدیته محیط در مراحل انجام واکنش شیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. در شرایط بهینه، کل مراحل نشاندارسازی رزمارینیک اسید با رادیوایزوتوپ گالیوم-۶۷ در حدود ۴۵ دقیقه به طول انجامید. ترکیب رزمارینیک اسید با غلظت ۱ درصد پرتوتابی شده در سطح ۳۰ کیلوگری پرتو گاما در مدت زمان ۳۰ دقیقه و با استفاده از pH (اسیدیته) محیط واکنش برابر با ۶ - ۵/۵ محلولی با خلوص ۹۵٪ بدست آمد و پایداری آن در دمای اطاق حداقل تا ۱۲ ساعت بررسی شد و تفاوت معنی‌داری در این بازه زمانی در خلوص رادیوشیمیایی مشاهده نگردید.

مراجع

1. P.P. McCue, K. Shetty, *Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase in vitro*, Asia Pac J Clin Nutr, 13(1), 10-106 (2004).
2. E. A. Offord, et al., *Antioxidant and biological properties of rosemary components: implications for food and health*, In F. Shahidi (Ed.), Natural antioxidants, Illinois, USA: AOCS Press (1997).
3. N. Erkan, et al., *Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol*, Food Chem, 110 (1), 76-82 (2008).

4. L. Hajhosseini, et al., *Effect of rosmarinic acid on sertoli cells apoptosis and serum antioxidant levels in rats after exposure to electromagnetic fields*, Afr J Tradit Complement Altern Med, 10(6), 477–80 (2013).
5. V.A. Tironi, et al., *Quality loss during the frozen storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*) effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract*, J Food Sci Tech, 43, 263–272 (2010).
6. S.Y. Lin, et al., *Hepatoprotective activities of rosmarinic acid against extrahepatic cholestasis in rats*, Food Chem Toxicol, 108, 214 - 23 (2017).
7. S.S. Chang, et al., *Natural antioxidant from Rosemary and Sage*, J Food Sci, 42, 1102-1106 (1977).
8. R. Rezanejad, et al., *Gamma-irradiated rosemary (*Rosmarinus officinalis*) dips treatment effect on quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during refrigerated storage*, Bulg J Vet Med, (2020).
9. R. Najafi, Sh. Khangholi, *Investigating the antioxidant activity of methanolic, ethanolic extracts of rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis*) under the influence of ultrasound waves*, the third national conference on organic cultivation and propagation of medicinal plants, (2017) (In Persian).
10. W. Hao, et al., *Hydrogen peroxide is involved in salicylic acid elicited rosmarinic acid production in *Salvia miltiorrhiza* cell cultures*, Sci World J, 1-7 (2014).
11. R. Lucarini, et al., *Hepatoprotective effect of *Rosmarinus officinalis* and rosmarinic acid on acetaminophen -induced liver damage*, Emir J Food Agric, 878 -884 (2014).
12. G.S. Li, et al., *In vitro and in vivo antifibrotic effects of rosmarinic acid on experimental liver fibrosis*, Phytomedicine, 17(3-4), 282 – 288 (2010).
13. W. Cao, et al., *Rosmarinic acid inhibits inflammation and angiogenesis of hepatocellular carcinoma by suppression of NF- κ B signaling in H22 tumor-bearing mice*, J Pharmacol Sci, 132(2), 131–7 (2016).
14. M. Dubois, et al., *Reaction of rosmarinic acid with nitrite ions in acidic conditions: discovery of nitro- and dinitrorosmarinic acids as new anti-HIV-1 agents*, J Med Chem, 51, 2575–2579 (2008).
15. G. Jayanthi, S. Subramanian, *Rosmarinic acid, a polyphenol, ameliorates hyperglycemia by regulating the key enzymes of carbohydrate metabolism in high fat diet –STZ induced experimental diabetes mellitus*, Biomed Prev Nutr, 4(3), 431 - 437 (2014).

16. A. Hamta, P. Parvini, *Study of Cytotoxic Effects of Taxol and Rosemary Extracts on Cancerous Cells Derived From DMBA-induced Breast Cancer in SD Rats*, Journal of Cell & Tissue, 2(2), 117-126 (2011) (In Persian).
17. R. Torkashavand, et al., *Evaluation of anticancer effects of rosemary extract and Leishmania extract on cervical cancer cells (HeLa)*, Razi Journal of Medical Sciences, 27(2), 103-112 (2020) (In Persian).
18. M. Heidarieh, et al., *Preparation and anatomical distribution study of ^{67}Ga -alginate acid nanoparticles for SPECT purposes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)*, Nukleonika, 59 (4), 153-159 (2014).
19. R. Rezanejad, et al., *Characterization of gamma-irradiated Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)*, Turk J Pharm Sci, 16, 43–47 (2019).
20. S.L. Kitson, et al., *Modern Developments in Isotopic Labelling*, Researchgate (2014).
21. A. R. Jalilian, et al., *Labeling, quality control and biodistribution of anti-CD 20 antibody with gallium-67*, J Nucl Sci Technol, 46, 10-17 (2007) (In Persian).
22. A. Taheri Borujeni, et al., *preparation and investigation of tissue distribution of gallium-67 labeled venom of Gadim Scorpion (*Hemiscorpiuslepturus*)*, doctoral thesis of Jundishapur University of Medical Sciences and Health Services, Ahvaz, Ahvaz (2013) (In Persian).
23. D.M. El-Sharawy, et al., *^{99m}Tc -Luteolin: radiolabeling, in silico ADMET and biological evaluation as a natural tracer tumor imaging*, J Radiat Res Appl Sci, 14, 125–132 (2021).
24. D.M. Taylor, et al., *The Scientific Background to Decorporation*, Radiation Protection Dosimetry, 87(1), 11–18 (2000).
25. B. Tepe, *Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq), *Salvia staminea* (Montbret and Aucher ex Benth) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey*, Bioresour Technol, 99, 1584-1588 (2007).
26. A. R. Jalilian, et al., *Development of ^{67}Ga -Bleomycin complex for tumor iamaging*, J. of Nuclear Sci. & Tech, 25, 9-15 (2002).
27. D. M. El-Sharawy, et al., *Radiolabeling, biological distribution, docking and ADME studies of ^{99m}Tc -Ros as a promising natural tumor tracer*, Appl Radiat Isot, 184, 110196 (2022).

28. H.S. Ali, et al., *Gold Nanoparticles in Cancer Diagnosis and Therapy*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, (2019) ISBN 9780128169605.
29. A.B. De Barros, et al., *Emerging role of radiolabeled nanoparticles as an effective diagnostic technique*. *EJNMMI Res*, 2 (39) (2012).
30. R. Chakravarty, et al., *Image-guided drug delivery with single-photon emission computed tomography: A review of literature*, *Curr Drug Targets*, 16, 592–609 (2015).
31. R. Chakravarty, et al., *Positron emission tomography image-guided drug delivery: Current status and future perspectives*. *Mol Pharm*. 11, 3777–97 (2014).
32. V.J. Chen, P. Ma, *Nano-fibrous poly (L-lactic acid) scaffolds with interconnected spherical macropores*, *Biomaterials*, 25(11), 2065–2073 (2004).
33. M. A. Nematollahi, et al., *Comparison between of effect of Ergosan particles and nano-particles as produced by using Gamma rays and ultrasonic waves on the growth and stress parameters indices of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*, *Aquaculture Sciences*, 7(2), 123-131 (2020).
34. M.R. Karim, et al., *Synthesis of core-shell silver–polyaniline nanocomposites by gamma radiolysis method*, *J Polym Sci*, 45, 5741-5747 (2007).
35. J.K. Kim, et al., *Structural and antioxidant properties of gamma irradiated hyaluronic acid*. *Food Chem*, 109 (4), 763–770 (2008).
36. E.H. Byun, et al., *Effects of gamma irradiation on the physical and structural properties of β -glucan*, *Radiat.Phys.Chem*, 77(6), 781–786 (2008).
37. A. Charlesby, *Crosslinking and degradation of polymers*, *Radiat. Phys. Chem*, 18, 59–66 (1981).
38. N. Damavandi Kamali, et al., *Effect of pH Variation on Cross-linking of Water-soluble and Acid-soluble Chitosan with Sodium Tripolyphosphate and Gallium-67*. *Curr Radiopharm*, 2021, DOI: 10.2174/1874471015666220204142608.

39. B. Cekic, et al., *Radiolabeling of methanol extracts of yarrow (Achillea millefolium l) in rats*, Acta Cir Bras, 27 (5), 294-300 (2012).
40. H.M. Rashed, et al., *^{99m}Tc-hexoprenaline and ¹³¹I-dapoxetine: preparation, in silico modeling and biological evaluation as promising lung scintigraphy radiopharmaceuticals*, J Radioanal Nucl Chem, 314, 1297–1307 (2017).
41. I.S. Ahmed, et al., *Nanoparticlemediated dual targeting: an approach for enhanced baicalin delivery to the liver*, Pharmaceutics, 12, 107 (2020).

مقالات أملاه انتشار

Radiolabeling of gamma-irradiated rosmarinic acid by ⁶⁷Gallium

Abstract

Rosemary plant extract as a natural anti-oxidant is 4 times stronger than synthetic anti-oxidant like BHT and BHA. For this reason, it has been under attention not only for its anti-oxidant properties rather for its anti-inflammatory, anti-tumor, anti-bacterial and anti-virus properties in different studies.

The purpose of this research is to investigate the effects of temperature, time, pH and substance concentration in the labeling of irradiated rosmarinic acid by radioisotope gallium-67 as a high-resolution imaging agent for SPECT imaging. In this study, gamma irradiated rosmarinic acid nanoparticles at 20 kGy and 30 kGy levels in two concentrations of 0.5 and 1% were radiolabeled by gallium-67 radioisotope produced in Karaj cyclotron, and their efficiency and radiochemical purity were compared. Labeling conditions (including pH, temperature, time and concentration of the compound) were investigated. Quality control was performed by thin layer chromatography (RTLC). According to the tests, the best time for labeling of irradiated rosemary nanoparticles at 30 kGy level and 1% concentration at 45 °C for 30 minutes and pH= 5.5 – 6, and the highest radiochemical purity achieved was 95%, radio conjugate showed good stability after 12 hrs. as well.

Keywords: Gallium-67, Radiolabeling, Rosmarinic acid, Radiochemical purity