J. of Nuclear Sci. and Tech.
No. 55, pp. 23-29, 2011

مجله علوم و فنون هسته‌ای
شماره ۵۵، صفحات ۲۹-۲۳، ۱۳۹۰

نشان‌دارسازی آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین با تکنسیم-۹۹m، کنترل کیفی و توزیع زیست‌شناختی آن

سیده فاطمه میرشجاعی، مصطفی عرفانی (گندم‌کار)*، محمدحسین طالبی، محمد مزیدی
پژوهشکده علوم هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۸۳۶-۱۴۳۹۵، تهران ـ ایران

چکیده: از آنتی‌بیوتیک‌های نشان‌دار، در پزشکی هسته‌ای می‌توان برای تشخیص و ردیابی عفونت استفاده کرد. آنتی‌بیوتیک‌ها به دلیل تمایل به ترکیب شدن با باکتری‌ها، ترکیبات اختصاصی برای ردیابی عفونت هستند. سیپروفلوکساسین، آنتی‌بیوتیک کینولونی با طیف گسترده است که به آنزیم DNA ژیراز باکتری وصل شده و از سنتز DNA در آن جلوگیری می‌کند. این مقاله به نشان‌دارسازی سیپروفلوکساسین با مرسوم‌ترین رادیونوکلید موجود در پزشکی هسته‌ای، تکنسیم-۹۹m، می‌پردازد. در این راستا، از قلع کلرید به عنوان کاهنده استفاده شده است و پارامترهای مختلف اعم از میزان کاهنده، pH محیط، میزان گرما برای تعیین بازده بهینه مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. کنترل رادیوشیمیایی آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده، با استفاده از کروماتوگرافی کاغذی انجام شده است. واکنش در دمای آزمایشگاه، خلوص ۳±۹۰٪ را برای کمپلکس به دنبال داشت. میزان پایداری رادیوداروی موردنظر در مجاورت سرم انسانی ظرف مدت ۱ و ۴ ساعت به ترتیب، ۸۴٫۲ و ۷۹٫۶٪ بوده و ۷۵٪ از فعالیت پرتوزایی مورد استفاده با باکتری اتصال پیدا کرد. نسبت جذب عضله‌ی عفونی به غیرعفونی ۱ ساعت و ۴ ساعت پس از تزریق به ترتیب، ۳٫۲ و ۱٫۸ به دست آمد.

***واژه‌های کلیدی:** رادیودارو، سیپروفلوکساسین، نشان‌دارسازی، ردیابی عفونت، تکنسیم-۹۹m*

Radiolabeling of Ciprofloxacin with Technetium-99m, Quality Control and Biodistribution

S.F. Mirshojaei, M. Erfani (Gandomkar)*, M.H. Talebi, M. Mazidi
Nuclear Science Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O.Box: 14395-836, Tehran – Iran

Abstract: Radiolabeled antibiotics are used for the specific diagnosis of infection by exploiting their specific binding properties to the bacterial components, thereby making it possible to differentiate infection from sterile lesions. ^{99m}Tc-ciprofloxacin is the most widely used infection imaging agent which belongs to quinolones group and has a vast antimicrobial action against bacterias. Ciprofloxacin binds to bacterial DNA Gyrase and inhibits its conventional synthesis. Ciprofloxacin labeled with ^{99m}Tc specifically binds to various bacteria. Thus, it potentially constitutes a specific marker allowing discrimination between septic and aseptic diseases. In this paper, we describe the labeling of ciprofloxacin with the most widely used imaging radionuclide, ^{99m}Tc. The quality control procedure using thin layer chromatography and the stability of labeled compound and also the effect of different parameters such as pH and stannous chloride amount on the radiolabeling yield were investigated. The maximum radiochemical yield was 90±3%. The stability of the radiolabeled antibiotic in the presence of human serum was about 84.2% and 79.6%, respectively after 1h and 4h. 75% of the activity binds to the plasma proteins and the ratio of infected muscle to non-infected muscle is 3.2 and 1.8, 1h and 4 hours post injection.

Keywords: ***Radiopharmaceuticals, Ciprofloxacin, Radiolabeling, Infection Detection, Technetium 99m***

*email: mgandomkar@aeoi.org.ir
تاریخ دریافت مقاله: ۸۹/۱/۲۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۱۱/۲۵

۱- مقدمه

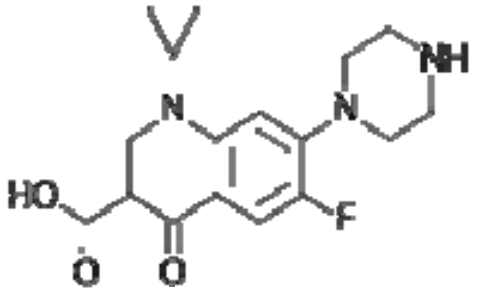
عفونت مهم‌ترین دلیل شیوع بیماری و مرگ‌ومیر در کشورهای در حال توسعه و تقریباً در تمام دنیا می‌باشد. مواد آنتی‌میکروبیال قوی در قرن بیستم برای کاهش شیوع عفونت و جلوگیری از مرگ‌ومیر ناشی از بیماری‌های عفونی، معرفی شدند. ظهور عوامل بیماری‌زای جدید، ایجاد مقاومت‌های گسترده به مواد آنتی‌میکروبیال و نیز غیرقابل کنترل بودن عفونت‌های بیمارستانی باعث جلب توجه زیاد به این مقوله شده است. ضمن این‌که افزایش تعداد بیماران مستعد HIV، بدخیمی‌ها و داروهای سرکوب‌کننده‌ی سیستم ایمنی باعث افزایش عفونت در کشورهای توسعه یافته و در حال پیشرفت شده است. در نتیجه، استراتژی اصلی در مواجهه با عفونت‌های میکروبی همان تشخیص به موقع عفونت می‌باشد که بتواند منجر به درمان مناسب گردد [۱ و ۲].

تشخیص بین عفونت‌های باکتریایی و التهاب‌های استریل به صورت بالینی بسیار مشکل است. تکنیک‌های رایج برای تشخیص عفونت‌ها همانند لوکوسیت‌های نشان‌دار شده با ^{99m}Tc و ^{111}In، ایمونوگلوبولین‌های پلی‌کلونال انسانی[۱] نشان‌دار شده با ^{99m}Tc یا ^{99m}Tc-HIG، اسکن سه فازی توسط ^{99m}Tc-MDP، اسکن توسط ^{18}FDG و اسکن توسط ^{67}Ga نمی‌توانند عفونت‌های باکتریایی را از التهاب‌های غیرعفونی تمیز دهند [۳ و ۴].

استاندارد طلایی[۲] در تشخیص عفونت در حال حاضر نشان‌دار کردن لوکوسیت‌های خون بیمار می‌باشد که به دلیل نیاز به خون‌گیری از بیمار، جداسازی گلبول‌های سفید خون، نشان‌دارسازی توسط ^{99m}Tc-HMPAO و تزریق مجدد به بیمار و احتمال ایجاد عفونت‌های ثانوی و نیز زمان نشان‌دارسازی طولانی مورد استقبال قرار نگرفته و لازم است از ترکیب‌های جدید دارای تمایز بالا و روش نشان‌دارسازی آسان استفاده گردد [۵ و ۶].

به طور نظری، آنتی‌بیوتیک‌های نشان‌دار شده به خاطر نفوذپذیری در رگ، به کانون‌های عفونی و التهابی راه یافته، در حضور باکتری متابولیزه می‌شوند و چون میزان جذب رادیودارو متناسب با تعداد میکروارگانیسم‌های حاضر در منطقه می‌باشد، در نتیجه میزان فعالیت پرتوزایی محاسبه شده می‌تواند با دقت و تمایز خوبی عفونت را نشان دهد [۴].

سیپروفلوکساسین (شکل ۱) آنتی‌بیوتیکی از دسته‌ی فلوئوروکینولون‌ها است که دارای فعالیت آنتی‌میکروبیال قوی و



شکل ۱- ساختار سیپروفلوکساسین.

با طیف گسترده بوده و باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به آن‌ها حساس‌اند. این آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور اختصاصی به آنزیم DNA ژیراز باکتری‌های گرم منفی و به توپوایزومراز IV باکتری‌های گرم مثبت وصل شده و از ساخت دیواره‌ی باکتری ممانعت به عمل می‌آورند که در نهایت باکتری از بین می‌رود.

سیپروفلوکساسین آزادانه به یون‌های فلزی متصل شده و در غلظت ۲۰۰ بار کم‌تر از غلظت درمانی با ^{99m}Tc نشان‌دار می‌شود.

این مقاله به نشان‌دارسازی، فرمول‌بندی و بهینه‌سازی روش نشان‌دارسازی، تعیین میزان پایداری در سرم انسانی و تعیین توزیع زیست‌شناختی سیپروفلوکساسین می‌پردازد. تکنسیم به راحتی در بیمارستان‌ها و مراکز پزشکی هسته‌ای در دسترس بوده و ارزان‌قیمت می‌باشد. برای نشان‌دارسازی، از یک ماده‌ی کاهنده (قلع کلرید) به منظور کاهش عدد اکسایشی پرتکنتات استفاده می‌شود.

۲- روش کار و دستگاه‌ها

مواد شیمیایی همگی با خلوص تجزیه‌ای و محصول شرکت‌های مرک و فلوکا بوده و هیچ‌گونه خالص‌سازی اضافی بر روی آن‌ها انجام نشد. آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین به صورت سیپروفلوکساسین هیدروکلرید از شرکت داروسازی تماد تهیه شد. صفحات کروماتوگرافی ITLC-SG مربوط به شرکت واتمن و شرکت گِلمان بودند. $^{99m}TcO_4^-$ از ژنراتور $^{99}Mo/^{99m}Tc$ موجود در سازمان انرژی اتمی ایران از طریق دوشش با سالین نرمال به دست آمد. کلیه‌ی محاسبات پرتوزایی با استفاده از شمارگر سوسوزنی یدورسدیم NaI(Tl) انجام شد. آب به کار رفته در کلیه‌ی موارد آب دوبار تقطیر شده بود.

۲-۱ تهیه‌ی محلول قلع کلرید دوآبه

برای تهیه‌ی محلول قلع کلرید، ۴۰ میلی‌گرم از قلع (II) کلرید در ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید ۰/۱ نرمال حل شد. سپس ۲۵ میکرولیتر از آن که حاوی ۱۰۰ میکروگرم قلع کلرید بود مورد استفاده قرار گرفت. این محلول می‌بایست در هنگام مصرف به صورت تازه تهیه شود.

۲-۲ نشان‌دارسازی سیپروفلوکساسین با ^{99m}Tc

در یک ویال ۱۰ میلی‌لیتری ۲ میلی‌گرم (۰/۳ میلی‌مول) از سیپروفلوکساسین در ۲۰۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر شده حل شد. سپس به آن ۲۵ میکرولیتر از محلول تازه تهیه شده‌ی قلع کلرید دوآبه اضافه شده و در نهایت به آن ۳۷۰ تا ۷۴۰ گیگابکرل پرتکنتات تازه دوشیده شده از ژنراتور $^{99}Mo/^{99m}Tc$ اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه شد.

۲-۳ تعیین خلوص رادیوشیمیایی

تعیین خلوص رادیوشیمیایی کمپلکس، با استفاده از دو سیستم حلال به عنوان فاز متحرک و دو نوع کاغذ کروماتوگرافی به عنوان فاز ساکن انجام پذیرفت. از کاغذ واتمن ITLC-SG در حلال استن برای جداسازی پرتکنتات آزاد استفاده شد. در این حلال پرتکنتات آزاد به جبهه‌ی حلال مهاجرت کرده و کمپلکس موردنظر و نیز ناخالصی TcO_2 در مبدأ باقی می‌مانند. از کاغذ گلمان ITLC-SG در حلال سه‌گانه شامل اتانول/ آمونیاک/ آب به نسبت ۵:۱:۲ برای جداسازی تکنسیم هیدرولیز شده استفاده شد. در این حلال TcO_2 به تنهایی در مبدأ باقی‌مانده و کمپلکس موردنظر و هم‌چنین پرتکنتات به جبهه‌ی حلال مهاجرت می‌کنند.

میزان خلوص کمپلکس به صورت زیر محاسبه گردید

خلوص کمپلکس=[۱۰۰-(شمارش TcO_4^-+شمارش TcO_2)]×۱۰۰

۲-۴ پایداری در سرم

برای تعیین پایداری آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده در سرم، ۱ میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده با فعالیت پرتوزایی بین ۱۰ الی ۲۰ میلی‌کوری به ۱ میلی‌لیتر از سرم انسانی اضافه شد. مخلوط واکنش در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. نمونه‌برداری در زمان‌های ۱، ۲ و ۴ ساعت پس از مخلوط کردن انجام پذیرفت. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده با ۱۰۰ میکرولیتر الکل ۹۹٪ مخلوط شده و پس از رسوب دادن پروتئین‌های موجود (تغییر ماهیت پروتئین‌های موجود)، به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰۰g سانتریفوژ گردید. در ادامه، از محلول رویی روی کاغذ کروماتوگرافی نمونه‌گیری شده و میزان پایداری کمپلکس در سرم محاسبه گردید.

۲-۵ تعیین میزان اتصال به پروتئین

برای تعیین میزان اتصال آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده به پروتئین‌های خون، ۱ میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده به ۱ میلی‌لیتر از سرم اضافه شده و به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن روی ستون سفادکس به طول ۱۴ سانتی‌متر و قطر ۱/۵ سانتی‌متر قرار داده شده و توسط فاز متحرک سالین نرمال و یا بافر فسفات شستشو داده شد. نمونه‌های ۱ میلی‌لیتری از ستون جمع‌آوری شده و فعالیت پرتوزایی آن‌ها به وسیله‌ی شمارگر گاما شمارش گردید.

۲-۶ آزمایش‌های تعیین میزان اتصال به باکتری

برای انجام آزمایش‌های میکروبی از استافیلوکوکوس اورئوس استفاده گردید. باکتری در محیط کشت مک‌کونکی[۳] در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد رشد داده شد. روز بعد غلظت‌های 1×10^8 CFU از باکتری تهیه گردید. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده به ویالی حاوی ۰/۹ میلی‌لیتر از مخلوط حلال‌ها شامل استیک‌اسید ۰/۰۱ مولار و بافرفسفات با pH برابر ۷/۵ به نسبت ۵۰:۵۰ اضافه گردید. در ادامه، ویال در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شده و سپس به مدت ۵ دقیقه در ۲۰۰۰g سانتریفوژ گردید. محلول رویی جدا شده و ماده‌ی ته‌نشین شده دوبار هر بار با ۱ میلی‌لیتر از بافر مخلوط شده و دوباره سانتریفوژ گردید. دوباره محلول رویی از ماده‌ی ته‌نشین شده جدا شده و فعالیت پرتوزایی رسوب حاصل از اتصال باکتری به کمپلکس نشان‌دار شده توسط شمارگر گاما اندازه‌گیری شد.

۲-۷ توزیع در بدن حیوان

برای تعیین نحوه‌ی توزیع رادیودارو در بدن حیوان از موش‌های با وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم استفاده شد. مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری حاوی 1×10^{8} CFU از استافیلوکوکوس اورئوس از طریق عضله، به پای راست حیوان تزریق گردید. ۲۴ ساعت بعد ۰/۱ میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده به حیوان تزریق و ۱ ساعت بعد حیوان با تزریق کتامین/زایلازین بیهوش شد و از آن تصویربرداری به عمل آمد. برای تعیین میزان تجمع دارو در هر اندام، حیوان کشته شده و ۱، ۲ و ۲۴ ساعت بعد اندام‌های موردنظر جمع‌آوری و وزن شده و توسط شمارگر گاما مورد شمارش قرار گرفتند.

۳- تست‌های آماری

محاسبه‌ی میانگین نتایج به دست آمده و انحراف معیار آن‌ها توسط Student t-test برای نمونه‌های مستقل، و با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد. نتایج با ۹۵٪ اطمینان ($p<0/05$) اختلاف معناداری نشان دادند.

۴- نتایج و بحث

برای تعیین شرایط بهینه‌ی واکنش و به دست آوردن بالاترین خلوص و بازده نشان‌دارسازی و هم‌چنین پایداری کمپلکس تکنسیم- سیپروفلوکساسین تأثیر پارامترهای مختلف بر بازده نشان‌دارسازی مورد بررسی قرار گرفت. این پارامترها عبارت‌اند از: pH محیط، مقدار قلع (II) کلرید، استفاده از کولیگاندهایی چون سدیم- پتاسیم تارترات و گلوکز، و دمای محیط. میزان پایداری ترکیب در مجاورت سرم انسانی و هم‌چنین میزان اتصال به باکتری و نحوه‌ی توزیع رادیودارو در بدن موش آزمایشگاهی نیز مورد بررسی قرار گرفت.

۴-۱ تأثیر pH

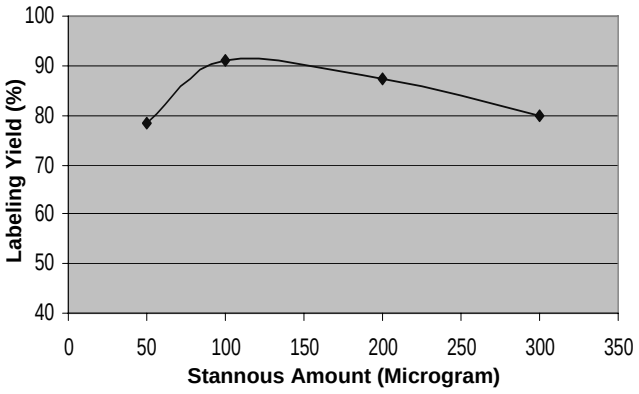
جدول ۱ تأثیر pH بر بازده نشان‌دارسازی را نشان می‌دهد. از آن‌جایی که با افزایش pH به مقادیر بالاتر از ۴ از انحلال‌پذیری سیپروفلوکساسین در آب کاسته می‌شود در این pHها با افت شدید بازده نشان‌دارسازی مواجه می‌شویم. به همین جهت، بازده نشان‌دارسازی تنها در pHهایی که باعث رسوب سیپروفلوکساسین نمی‌شوند در جدول ۱ گزارش شده است. pHهای بین ۲/۵ و ۴ هم مورد آزمایش قرار گرفتند که نتایج آن مشابه نتیجه‌ی مربوط به pH برابر ۴ می‌باشد.

۴-۲ اثر مقدار قلع (II) کلرید

برای تهیه‌ی اغلب رادیوداروهای با ماده‌ی اصلی ^{99m}Tc، از قلع کلرید دوآبه به عنوان کاهنده استفاده می‌شود تا بتوان تکنسیم را از ظرفیت ۷+ (به صورت پرتکنتات)، به ظرفیت‌های پایین‌تر برد. نتایج بررسی تأثیر مقدار قلع (II) کلرید بر بازده نشان‌دارسازی کیت مورد بررسی در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ۲ به وضوح دیده می‌شود، بازده نشان‌دارسازی کمپلکس به میزان قلع کلرید موجود در محیط واکنش بستگی دارد و بالاترین مقدار بازده یعنی، ۹۱٪ برای ۱۰۰μg به دست می‌آید. در مقادیر پایین‌تر از آن، بیش‌ترین میزان ناخالصی مربوط به یون پرتکنتات آزاد می‌باشد که به دلیل کمبود میزان کاهنده، به صورت کاهیده نشده باقی مانده است و در مقادیر بالاتر از ۱۰۰μg بیش‌ترین مقدار ناخالصی مربوط به کلویید ایجاد شده می‌باشد.

جدول ۱- تأثیر pH بر بازده نشان‌دارسازی

pH	پرتکنتات آزاد (٪)	TcO_2(٪)	خلوص رادیوشیمیایی
۲/۵	۵/۱	۲/۸	۹۲/۱
۴	۹/۳	۲۰/۶	۷۰/۱



شکل ۲- بازده نشان‌دارسازی به صورت تابعی از مقدار قلع (II) کلرید.

۴-۳ اثر کولیگاند

در تلاش برای افزایش بازده نشان‌دارسازی از کولیگاندهای سدیم- پتاسیم تارترات و نیز گلوکز استفاده شد. نتایج حاصل در جدول ۲ داده شده‌اند. همان‌طور که از نتایج جدول برمی‌آید استفاده از کولیگاند، به بالا بردن بازده نشان‌دارسازی منجر شد. از این‌رو، از لیگاندهای کمکی برای این منظور استفاده نشد.

۴-۴ اثر دمای واکنش بر بازده نشان‌دارسازی

نشان‌دارسازی کمپلکس Tc- سیپروفلوکساسین ابتدا در دمای آزمایشگاه انجام و بازده آن برابر ۹۰٪ به دست آمد. برای بالاتر بردن بازده از دمای نقطه‌ی جوش آب (۹۲ درجه‌ی سانتی‌گراد) استفاده شد. این بار مشاهده گردید که در این دما کمپلکس تجزیه شده و بازده نشان‌دارسازی به ۵۸٪ کاهش می‌یابد.

۴-۵ تأثیر فیلتراسیون و لیوفیلیزاسیون بر روی پایداری کیت

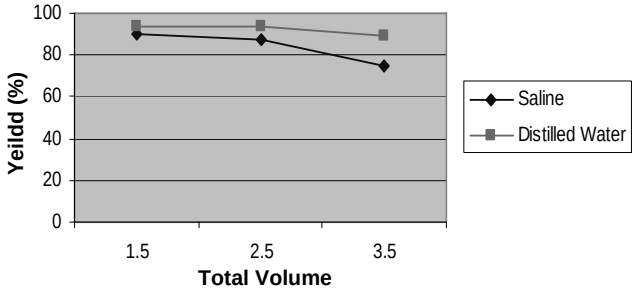
برای تعیین میزان پایداری کیت سرد، تعدادی کیت سیپروفلوکساسین تهیه و در فریزر به صورت قرنطینه نگه‌داری شد. برای این کار از فیلترهای ۰٫۲۲ میکرون استفاده شد و کیت‌ها به صورت لیوفیلیزه درآمدند. آزمایش‌های متعدد نشان داد که فیلتراسیون و لیوفیلیزاسیون بر بازده نشان‌دارسازی تأثیر ندارد. اما پایداری این کیت‌ها حداکثر تا ۲ ماه است و بازده کیت‌ها پس از ۳ ماه به ۸۵٪ کاهش می‌یابد.

۴-۶ تأثیر افزایش حجم کیت و میزان فعالیت پرتوزایی بر بازده نشان‌دارسازی

باید توجه داشت که در صورت رقیق کردن فعالیت پرتوزایی با سالین نرمال، به دلیل خوب حل نشدن سیپروفلوکساسین در سالین، بازده نشان‌دارسازی کاهش پیدا می‌کند و بهترین بازده نشان‌دارسازی در هنگام استفاده از آب مقطر به دست می‌آید (شکل ۳).

جدول ۲- اثر کولیگاند

		پرتکنتات آزاد (٪)	TcO_4(٪)	خلوص رادیوشیمیایی
کولیگاند	سدیم- پتاسیم تارترات	۱۱٫۴	۰٫۵	۸۸
	گلوکز	۶٫۸	۸٫۳	۸۵



شکل ۳- بازده نشان‌دارسازی برحسب حجم کیت.

هم‌چنین لازم به ذکر است که با بالا رفتن مقدار فعالیت پرتوزایی، از میزان پایداری کیت کاسته شده و شاهد افت بازده نشان‌دارسازی پس از گذشت ۴ ساعت می‌باشیم.

۴-۷ پایداری در سرم و میزان اتصال آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده به پروتئین

نتایج آزمایش‌های تعیین پایداری در سرم نشان می‌دهد که کمپلکس تا ۴ ساعت پس از مخلوط شدن با سرم پایدار بوده و با گذشت زمان کاهش جزیی از خود نشان می‌دهد به طوری‌که در مدت ۴ ساعت میزان پایداری از ۸۴٫۲٪ به ۷۹٫۶٪ می‌رسد. هم‌چنین نتایج تعیین میزان اتصال به پروتئین نشان می‌دهد که میزان اتصال آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده به پروتئین برابر ۸۷٪ بوده است.

۴-۸ نتایج اتصال به باکتری و توزیع زیست‌شناختی در بدن

نتایج بررسی میزان اتصال به باکتری نشان می‌دهد که ۷۵٪ فعالیت پرتوزایی آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده به باکتری متصل می‌گردد. هم‌چنین آنتی‌بیوتیک سرد (نشان‌دارنشده) با غلظتی معادل ۵۰ برابر غلظت آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده، از اتصال آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده به باکتری جلوگیری کرده و میزان اتصال کمپلکس تکنسیم- سیپروفلوکساسین به ۱۶٪ کاهش پیدا می‌کند.

در جدول ۳ نتایج توزیع زیست‌شناختی آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین نشان‌دار شده با تکنسیم در بدن موش در زمان‌های ۲ و ۴ ساعت پس از تزریق آورده شده است. نتایج به صورت مقدار ± انحراف معیار در حداقل ۳ موش و هم‌چنین به صورت ID/g در هر اندام گزارش

جدول ۳- نتایج توزیع زیست‌شناختی دارو در موش‌ها (حداقل ۳ موش آزمایشگاهی)

اندام	نتایج ۱ ساعته	نتایج ۴ ساعته
خون	۵٫۹۵±۰٫۲۸	۶٫۶۶±۰٫۱۲
قلب	۲٫۱۴±۰٫۱۴	۱٫۱۸±۰٫۰۹
ریه	۴٫۲۶±۰٫۰۹	۲٫۸±۰٫۰۷
معده	۱٫۱۷±۰٫۱۱	۱٫۶±۰٫۲۶
روده	۲٫۶۱±۰٫۲۲	۴٫۴±۰٫۱۸
کبد	۱۶٫۱±۰٫۳۴	۱۹٫۵±۰٫۲۷
طحال	۳٫۳۹±۰٫۱۹	۵٫۲۵±۰٫۰۹
کلیه	۱۴٫۰۸±۰٫۰۹	۶٫۵۹±۰٫۱۷
عضله‌ی غیرعفونی	۱٫۱۴±۰٫۰۳	۱٫۳۲±۰٫۷
عضله‌ی عفونی	۳٫۶۳±۰٫۰۸	۲٫۳۷±۰٫۱۰

شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود بیش‌ترین میزان جذب در کبد و کلیه مشاهده می‌شود. راه دفع سیپروفلوکساسین نشان‌دار شده از طریق کبد بوده و این، با نتیجه‌ی گزارش شده در سال ۲۰۰۲ توسط جان اُو[۴] هم‌خوانی دارد ولی با مقاله‌ی چاپ شده در سال ۱۹۹۱ توسط گوودمن[۵] در تضاد است که بر طبق آن راه دفع این آنتی‌بیوتیک از طریق کلیه می‌باشد. از طرفی در مقاله‌ی چاپ شده در سال ۲۰۰۵ توسط سینگ[۶] اظهار شده است که می‌توان دو راه جذب کبدی و کلیوی برای سیپروفلوکساسین نشان‌دار در نظر گرفت [۷، ۸ و ۹].

بالا بودن میزان اتصال آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده به پروتئین‌های پلاسما باعث می‌شود پس از ۴ ساعت، کاهشی در میزان فعالیت پرتوزایی در خون دیده نشود. نسبت جذب داروی نشان‌دار شده در عضله‌ی عفونی به عضله‌ی غیرعفونی ۱ و ۴ ساعت پس از تزریق به ترتیب، ۳٫۲ و ۱٫۸ می‌باشد.

۵- نتیجه‌گیری

سیپروفلوکساسین آنتی‌بیوتیکی با طیف گسترده است که باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به آن حساس هستند. از آن‌جا که دز به کار رفته در نشان‌دارسازی آنتی‌بیوتیک بسیار پایین است از آنتی‌بیوتیک نشان‌دار شده نباید انتظار درمان عفونت داشت. بازده نشان‌دارسازی کمپلکس سیپروفلوکساسین-تکنسیم با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی برابر ۳±۹۰٪ تعیین شد. براساس تحقیق انجام شده شرایط بهینه برای این نشان‌دارسازی استفاده از ۲mg سیپروفلوکساسین در ۲۰۰µl آب دوبار تقطیر شده، ۱۰۰µg قلع (II) کلرید، pH=۲٫۵-۳ و زمان واکنش ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه می‌باشد. کیت نشان‌دار شده حداقل به مدت ۴ ساعت پایدار بوده و عمر نگه‌داری آن ۲ ماه می‌باشد. استفاده از کولیگاندهایی مانند سدیم- پتاسیم تارترات و گلوکز بر بازده نشان‌دارسازی اثر مثبتی نداشته و نیز لیوفیلیزاسیون و فیلتراسیون ترکیب غیرنشان‌دار بر ترکیب اثر منفی ندارد. میزان پایداری کیت تا ۴ ساعت تقریباً ثابت بوده و میزان اتصال ترکیب به پروتئین‌های پلاسما ۸۷٪ می‌باشد. ۷۵٪ ترکیب نشان‌دار شده به باکتری متصل شده و راه دفع رادیودارو عمدتاً از طریق کبد می‌باشد. نتایج نشان می‌دهند که جذب رادیودارو در عضله‌ی عفونی بیش‌تر از عضله‌ی غیرعفونی بوده و از آن‌جایی که واکنش، در دمای اتاق به راحتی و در فاصله‌ی زمان کوتاهی انجام می‌شود، استفاده از آن در مراکز پزشکی هسته‌ای و بیمارستان‌ها امکان‌پذیر است.

تقدیر و تشکر

در این‌جا بر خود لازم می‌دانیم از کلیه‌ی همکاران شاغل در بخش رادیوایزوتوپ سازمان انرژی اتمی ایران، شرکت تهیه‌ی مواد اولیه دارویی (تماد) و کلیه‌ی کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری رسانده‌اند سپاسگزاری نماییم.

پی‌نوشت‌ها:

۱- Human Polyclonal Immunoglobulin

۲- Gold Standard

۳- Mac Conkey

۴- Jun Oh

۵- Goodman

۶- Singh

References:

1. K.E. Britton, D.W. Wareham, K.K. Solanki, H. Amaral, A. Bhatnagar, "Imaging bacterial infection with ^{99m}Tc-ciprofloxacin (infecton)," J. Clin. Pathol., 55: 817-23 (2008).

2. D. Wareham, J. Michael, "Advances in bacterial specific imaging," Braz. Arch. Biol Tech, 48: 145-52 (2005).

3. S.S. Das, A.V. Hall, D.W. Wareham, K.E. Britton, "Infection imaging with radiopharmaceuticals in the 21st century," Braz. Arch, Biol Tech, 45: 25-37 (2002).

4. K. Sonmezuglu, et al, "Usefulness of ^{99m}Tc-ciprofloxacin (infecton) scan in diagnosis of chronic orthopedic infections: comparative study with ^{99m}Tc-HMPAO leukocyte scintigraphy," J. Nucl. Med., 42: 567-74 (2001).

5. N. Bhardwaj, A. Bhatnagar, A.K. Singh, "Development and evaluation of a single vial cold kit for infection imaging: Tc-^{99}m ciprofloxacin," World, J. Nucl. Med., 4: 244-251 (2005).

6. A. Benitez, M. Roca, J. Martin-Comin, "Labeling of antibiotics for infection diagnosis," Q. J. Nucl. Med. Mol. Imaging, 50: 147-52 (2006).

7. S. Jun Oh, J. Ryu, J. Woo Shin, E. Jin Yoon, "Synthesis of ^{99}mTc-ciprofloxacin by different methods and its biodistribution," Appl. Rad & Isotopes, 57, 193-200 (2002).

8. R.H. Siaen, H.J. Rennen, O.C. Boermann, R. Dierckx, G. Slegers, "Synthesis and comparison of ^{99}mTc-enrofloxacin and ^{99}mTc-ciprofloxacin," J. Nucl. Med 45; 2088-2094 (2004).

9. B. Singh, B.R. Mittal, A. Bhattacharya, "Tc-99m ciprofloxacin imaging in the diagnosis of postsurgical bony infection and evaluation of the response to antibiotic therapy," J. of Orthopedic Surgery, 13(2): 190-194 (2005).