

ستز و فرمول بندی کیت رادیوداروی قلبی ^{99m}Tc -MIBI

رضا نجفی، علی اصغر یراقچی، غلامعلی شعبانی، طیبه هادیزاد، حسین حمزه‌ای،

مجتبی عبدالله پور، معصومه دوست فرهی، شهناز طلوعی

بخش رادیوایزوتوپ مرکز تحقیقات هسته‌ای

سازمان انرژی اتمی ایران

چکیده

ساختار شیمیایی ترکیبات ایزونیتریل، به ویژه ترکیب متوکسی ایزوبوتیل ایزونیتریل (MIBI) که با ^{99m}Tc ترکیب پیچیده (کمپلکس) می‌دهد بررسی شده است.

ترکیب پیچیده ^{99m}Tc -MIBI به علت دارا بودن خاصیت چربی دوستی و یک ظرفیتی جذب عضله قلب می‌شود، و به همین جهت در بررسی نگاره برداری پرفیوژن^۱ عضله قلب بکار می‌رود. بنابراین ستز، فرمول بندی و کنترل کیفی آن در بخش رادیوایزوتوپ مرکز تحقیقات هسته‌ای انجام شده است و کیت رادیوداروی (MIBI) به صورت پودر خشک^۲، سترون شده (استریل) و عاری از مواد تب‌زا به مراکز پزشکی هسته‌ای عرضه می‌شود.

مقدمه

چگونگی جذب، توزیع، سوخت و ساز و تراوش رادیودارویی‌ها بستگی به عبور آنها از غشاء یاخته دارد. کسب اطلاعات لازم درباره ویژگیهای آنها (مانند اندازه مولکول، شکل، درجه یونش و حلالیت در چربی) می‌تواند ما را به درک سازوکار عبور از غشاء یاخته کمک کند. در مورد قلب، میزان و وسعت توزیع اولیه رادیودارو در یاخته به وسیله بازدهی قلب و جریان خون منطقه‌ای مشخص می‌شود. ترکیبات قابل حل در چربی و کاتیون‌های یک ظرفیتی به آسانی از غشاء یاخته‌های قلب عبور می‌کنند و در اندامهای بدن مانند ریه، کبد، روده، کلیه و بافتهای پر خون دیگر پخش می‌شوند. اشکال عمده‌ای که در «توزیع بین بافتی» مواد قابل حل در چربی وجود دارد اتصال آنها به پروتئین‌های پلاسماست. با توجه به وسعت پخش رادیوداروهای چربی دوست در بدن، میزان جذب آنها در اندام مورد نظر (قلب) در مقایسه با اعضای دیگر بدن کاهش می‌یابد، و در نتیجه نمی‌توان تصویر واضحی از قلب بدست آورد.

برای این که بتوانیم رادیوداروی قلبی مناسبی یا به عبارت دیگر، کمپلکس مطلوبی با حداکثر مقدار جذب در قلب (که هدف ما است)، در مقایسه با اندامهای دیگر تولید کنیم باید این سه اصل را در نظر بگیریم:

۱ - Perfusion: پمپ کردن یک سیال از راه رگ در یک اندام بدن

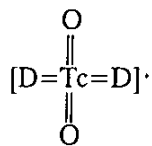
۲ - Lyophilised

۱- تولید کمپلکس با یک بار مثبت

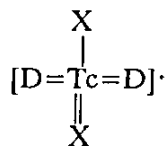
۲- شکل و جرم مولکولی مناسب

۳- قابلیت انحلال مطلوب در چربی

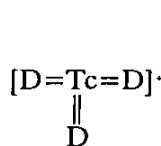
چون فلزات قلبیایی (نظیر پتاسیوم) با یک بار مثبت جذب یاخته‌های عضلانی قلب می‌شوند لذا اندیشه سنتز کمپلکس‌های یک ظرفیتی ^{99m}Tc به وجود آمد. تکنسیوم، به صورت پرتکتات احیاء شده، به عنوان یک فلز واسط عمل می‌کند و پذیرای زوجهای الکترونی است؛ از سوی دیگر با توجه به اتم‌های الکترون دهنده‌ای مانند O، N، P، S، As موجود در لیگاندها و با توجه به ظرفیتهای مختلف پرتکتات احیاء شده، می‌توان کمپلکسهایی با ظرفیتهای مختلف بدست آورد. به عنوان مثال، لیگاندهای دو دندانه‌ای (دهنده دو الکترون) با ظرفیتهای مختلف تکنسیوم، کمپلکسهایی یک ظرفیتی زیر را بوجود می‌آورند:



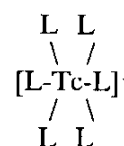
OH, Br, Cl: X



L: لیگاند یک دندانه‌ای،



D: لیگاند دو دندانه‌ای،



مشتقات آلکیل ایزونیتریل به عنوان لیگاند یک دندانه‌ای توسط Davinson و Jones [4]، در سال ۱۹۸۲/۱۳۶۱ مورد توجه قرار گرفت و از آن به بعد مشتقات متعددی، به امید یافتن یک رادیوداروی مطلوب برای قلب، سنتز شده‌اند. در این کمپلکس ۶ مولکول مشتق ایزونیتریل، تکنسیوم یک ظرفیتی را احاطه کرده و کربن ایزونیتریل یک الکترون خود را در اختیار Tc قرار می‌دهد و در نتیجه کمپلکس یک ظرفیتی به فرمول $[\text{Tc}(\text{C}\equiv\text{N}-\text{R})_6]^+$ به وجود می‌آید. با جایگزین نمودن گروههایی از قبیل آلکیل به جای R می‌توان شکل فضایی، جرم مولکولی و میزان چربی دوستی مناسب برای یک عامل رادیوداروی قلبی بدست آورد.

گروههای آلکیلی که مورد آزمایش قرار گرفتند عبارتند از: اتیل، ایزوپروپیل و پروپیل نرمال - که به سبب وزن مولکولی پایین - t-amyl، فنیل و بنزیل - به علت وزن مولکولی بالا - جذب قلبی مطلوبی نداشتند، ولی ایزوبوتیل، مخصوصاً t-butyl جذب قلبی بسیار خوبی نشان داد. لذا با جانشین کردن t-Bu بجای R، ترکیب TBI (Tertiary Butyl Isonitryl) حاصل شد که مدتی مورد استفاده کلینیکی قرار گرفت، ولی اشکالی که در مورد استفاده این ترکیب چربی دوست بوجود آمد اتصال قوی آن به سرم آلبومین خون و طبیعتاً جذب زیاد آن در کبد بود که باعث عدم رویت قسمتی از قلب می‌شد. لذا محققین بر آن شدند تغییراتی در t-Butyl به وجود آورند، به طوری که جذب قلبی به همان میزان بالای خود باقی بماند ولی استحکام اتصال بین ترکیب فوق با سرم آلبومین کاهش یابد تا بتواند به سرعت از خون پاک شود و به لحاظ پایین آمدن خاصیت چربی دوستی آن کمتر جذب کبد شود. در نتیجه دوز آکتیویته جذب شده در قلب (عضو هدف) نسبت به اعضای غیرهدف اطراف آن به حداکثر برسد، تا بتوان تصویر قلبی مناسبی را بدست آورد. ضعیف بودن اتصال گروههای اتری (-O-) با سرم آلبومین خون باعث شده است که مشتقاتی از گروههای اتری ایزونیتریل سنتز شوند و مورد آزمایش قرار گیرند. گروههای اتری علاوه بر ضعیف بودن اتصالشان با سرم آلبومین خون، در

کبد سوخته و ساخته (متابولیزه) شده به گروههای هیدروکسیل تبدیل می‌شوند. با هیدرولیز شدن گروههای هیدروکسیل و تشکیل گلوکوزونیدها، با سرعت بیشتری از کبد خارج می‌شوند. در ضمن آزمایش روی گروههای اتری، مشاهده شده است که با جایگزینی گروه $O-CH_2$ به جای یکی از گروههای متیل در $t-Bu$ ، ترکیب جدیدی به نام متوکسی ایزوبوتیل ایزوسیانید (MIBI)، به فرمول $C \equiv N-CH_2-C(CH_3)_2OCH_3$ بدست می‌آید که تمام ویژگی‌های فوق را دارد [۵]. به این ترتیب شش مولکول از لیگاند MIBI، تکنسیموم یک ظرفیتی را احاطه کرده و کمپلکس با یک بار مثبت بوجود می‌آورد که در ضمن عبور از غشاء یاخته (به علت چربی‌دوستی) و تثبیت آن در یاخته (بخاطر داشتن یک بار مثبت) و همچنین به سبب کاسته شدن خاصیت چربی‌دوستی آن، به سرعت از خون پاک می‌شود و در کبد نیز مدت طولانی باقی نمی‌ماند؛ لذا تصویر قلب با وضوح کامل بدست می‌آید.

لیگاند MIBI ترکیبی است مایع، سمی، فرار، محرک و بدبو که آن را به ترکیب چنگالی به فرمول $Cu(MIBI)_2BF_4$ ، که به شکل پودر است، تبدیل کرده و با فرمول بندی (که بعد گفته خواهد شد) به صورت کیت MIBI عرضه می‌دارد. این کیت، چنانکه گفته شد، بعد از ایجاد کمپلکس با ^{99m}Tc و تزریق وریدی بطور غیرفعال^۳ متناسب با جریان خون، جذب یاخته‌های قلب شده و ۸۰ تا ۸۵ درصد آن در سیتوزول^۴ یاخته جمع می‌شود. در اینجا احتمالاً^۵ ترکیبی با وزن مولکولی کمتر که دارای تمایل جذب^۵ بالا و غیرقابل سوخت و ساز است تشکیل می‌شود که اتصال پیش گفته را به وجود می‌آورد و مدت نسبتاً^۶ طولانی در یاخته‌های قلب باقی می‌ماند.

روش و مواد اولیه

در تهیه کیت متوکسی ایزوبوتیل ایزوسیانید دو کار عمده باید انجام شود: سنتز لیگاند و فرمول بندی مناسب کیت، برای بدست آوردن حداکثر خلوص رادیوشیمیایی.

۱- سنتز ۲- متوکسی ایزوبوتیل ایزوسیانید و تهیه کیلات آن با مس^۶

برای سنتز این ترکیب به ناچار باید مراحل طولانی طی کرد. در ضمن باید بوی بد محرک و سمی بودن آن را در نظر داشت. آزمایشگاه نیز باید از امکاناتی نظیر هود با مکش قوی برخوردار باشد و پیش‌بینی‌های لازم از نظر ایمنی نیز به عمل آید. در سنتز لیگاند مزبور، که باموفقیت در آزمایشگاه بخش رادیوایزوتوپ سازمان انجام گرفت، از روش گزارش شده توسط آژانس بین‌المللی انرژی اتمی استفاده شد [۱]، و با اصلاحات و تغییراتی که در آن بعمل آمد موفق به سنتز این ماده با بازدهی ۴۰٪ و درجه خلوص در حد مطلوب شدیم. مراحل طی شده اجمالاً^۶ به شرح زیر است:

۳ - Passive

۴ - Cytosol

۵ - Affinity

۶ - Cuprous Chelate

مرحله اول: تهیه ۲-متیل آلایل فورمامید (ترکیب I)

۰/۳ مول از متیل آلایل آمین هیدراته را با ۰/۳ مول از محلول‌های اتیل فورمات و تری‌متیل آمین مخلوط کرده و به مدت ۱۷ ساعت به ملایمت با عمل رفلکس حرارت دادیم. پس از سرد شدن، ماده موردنظر را با اتر استخراج کرده سپس محلول روغنی حاصل را با روش تقطیر جزء به جزء تحت خلاء ۰/۷۵ میلی‌متر جیوه قرار داده و در دمای ثابت ۹۱ درجه سانتی‌گراد ترکیب I را جدا کردیم.

مرحله دوم: تهیه ۲-متوکسی ایزوبوتیل فورمامید (ترکیب II)

در این مرحله، عامل متوکسی ($-OH_2$) را، به روش اکسیدکردن با ترکیب اکسیژن‌دار جیوه^۷ و بعد کاهش (احیاء کردن) توسط سدیم بوروهایدراید، بر روی کربن دوم در ترکیب متیل آلایل فورمامید (ترکیب I) نشانیدیم:

۰/۱۹۳ مول استات جیوه را در ۱۹۵ میلی‌لیتر متانول بی‌آب حل کرده و در ضمن همزدن ۱۹/۱ گرم از ترکیب I را قطره قطره به آن اضافه نمودیم. این مخلوط را به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد همزدیم، سپس آن را سرد کرده و ۴۰۰ میلی‌لیتر متانول و سود (۶۴/۴ گرم) قطره قطره در حال هم‌زدن به مخلوط واکنش اضافه کردیم. بعد از ۲۰ دقیقه همزدن، ۰/۰۹۷ مول سدیم بوروهایدراید کم‌کم به این مخلوط افزوده و سپس آن را به مدت ۱۰ ساعت در محدوده دمای ۰-۵ درجه سانتی‌گراد همزدیم. برای خارج ساختن جیوه آزاد شده از صافی حاوی سلیت^۸ استفاده شد. به محلول صاف شده، ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه کرده سپس ۴ بار آن را با کلروفورم استخراج و کلروفورم حاوی ماده II را تبخیر کردیم تا تمام کلروفورم خارج شد. محصول روغنی باقیمانده را توسط دستگاه تقطیر جزء به جزء، تحت خلاء ۱/۵ میلی‌متر جیوه در محدوده دمای ۱۰۹-۱۱۵ درجه سانتی‌گراد خالص ساختیم.

مرحله سوم: سنتز ۲-متوکسی ایزوبوتیل ایزوسیانیید (ترکیب III)

در این مرحله از سنتز، عامل آمیدی $-NH-COH$ به ایزوسیانیید $-N\equiv C$ تبدیل می‌شود. ۱۵/۹ گرم از ترکیب II را با ۶۳ میلی‌لیتر پیریدین سرد نموده سپس ۱۱/۱ گرم از محلول فسفواکسی کلراید را به مدت ۴۵ دقیقه قطره قطره به مخلوط اضافه می‌کنیم و دمای آن را بالا می‌بریم تا در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه گرم بماند. مخلوط را دوباره سرد کرده و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر سرد به آن افزودیم، سپس توسط بنزن عمل استخراج را ۳ تا ۴ بار انجام داده و محصول را جمع‌آوری کردیم. محلول بنزن حاوی ترکیب III را سه بار با آب شستشو داده و به کمک سولفات منیزیم آب موجود در بنزن را خارج ساختیم. در نهایت، حلال بنزن را از محیط عمل خارج و محصول روغنی را تحت خلاء ۴ میلی‌متر جیوه، در دمای جوش ۵۵-۵۷ درجه سانتی‌گراد (تقطیر جزء به جزء) قرار دادیم.

۷- Oxymercuration

۸- Cellite

مرحله چهارم: تهیه کیلات MIBI^۹

در این مرحله، ترکیب MIBI حاصل از مرحله ۳ را که محلولی است فرار، بسیار بدبو و سمی، به صورت کمپلکس کیلاتی درآوردیم تا بتوان آن را به شکل پودر قابل توزین و قابل حل در آب، برای تهیه کیت مورد استفاده قرار داد. برای بدست آوردن این کیلات دو عمل انجام گرفته است:

الف - تهیه کمپلکس $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{BF}_4$. پس از افزودن ۳/۵ گرم اکسید مس یک ظرفیتی به ۱۱/۵ میلی لیتر استونیتریل و ۸۲ میلی لیتر آب مقطر و همزدن مداوم، ۱۰ میلی لیتر فلونوروبوریک اسید ۵۰٪ قطره قطره اضافه کرده و در حمام آب جوش حرارت داده ایم؛ سپس مخلوط حاصل را از صافی گذرانده و محلول زیرصافی را در ظرف محتوی یخ قرار داده ایم؛ رسوب سفید حاصل در سرما را از محلول جدا کرده و با ۱۰۰ میلی لیتر استونیتریل جوشانده ایم، سپس ۱۰۰ میلی لیتر اتری آب به آن اضافه و مخلوط را سریعاً سرد کرده رسوب سفید حاصل را به سرعت تحت جریان گاز ازت خشک تصفیه کرده ایم و در دسیکاتور خلاء نگه داشته ایم. محصول سفید حاصل شدیداً رطوبت گیر بوده و رنگ آن در اثر رطوبت آبی می شود.

ب - افزودن کمپلکس بدست آمده به ۱۸ میلی لیتر دی کلرومتان در دمای صفر درجه و هم زدن مداوم؛ پس از آن ۳ گرم ترکیب III و ۹ میلی لیتر دی کلرومتان قطره قطره به مخلوط اضافه کرده و مخلوط را به مدت ۱۲ ساعت در حرارت آزمایشگاه نگه داشته ایم سپس توسط دستگاه تبخیر در خلاء در دمای محیط، حلال مزبور را خارج و رسوب را در اتانول حل و توسط اتر متبلور کرده ایم. کیلات MIBI (با فرمولی که در قسمت "بحث" مندرج است) با نقطه ذوب ۸۴-۸۵ درجه سانتی گراد بدست آمد.

۲- فرمول بندی و نشاندار کردن با $^{99\text{m}}\text{Tc}$

۲۰ میلی گرم کیلات $\text{Cu}(\text{MIBI})_4\text{BF}_4$ را در ۱۸ میلی لیتر آب حل کرده سپس سیستین^{۱۰} به مقدار ۲۰ میلی گرم، سترات سدیم به مقدار ۵۲ میلی گرم و مانیتول، ۴۰۰ میلی گرم به آن افزوده و به مدت ۱۵ دقیقه همزدیم. در ظرف دیگری ۷۵ میلی گرم کلرایداستانوی آبدار را در ۰/۲ میلی لیتر اسید کلریدریک حل کرده و با آب به حجم ۱۰ میلی لیتر رساندیم. ۰/۲ میلی لیتر از کلرایداستانوی رقیق شده به ویالی که حاوی MIBI و سایر ترکیبات بود اضافه کردیم. pH را بوسیله سود رقیق در ۵/۴-۵/۶ تنظیم، و در نهایت حجم را به ۲۰ میلی لیتر رسانده و در «ویال ها» هر یک به مقدار ۱ میلی لیتر تقسیم کردیم. عمل تبدیل به پودر خشک، در درجه حرارت نهایی صفر درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت صورت گرفت، و آزمایش کلا^{۱۱} در شرایط گاز ازت و سترونی برای تهیه کیت MIBI انجام شد.

۳- کنترل کیفی

مقدار کمپلکس حاصل را به روش کرماتوگرافی لایه نازک (TLC) معین کردیم: به این ترتیب که با استفاده از TLC-SG در

۹ - Tetra- (2-Methoxy-isobutyl-isocyno)-Copper tetra fluoro borate

۱۰ - Cysteine

آب‌نمک ایزوتونیک، پرتکتات $^{99m}(\text{TcO}_4)^-$ آزاد و در $Rf \approx 1$ جدا می‌شود و با استفاده از حلال استون، تکنسیوم احیاء شده ($^{99m}\text{TcO}_2$) که در مبداء باقی می‌ماند توانستیم میزان درصد ناخالصی رادیوشیمیایی و در نتیجه میزان خلوص رادیوشیمیایی کمپلکس تولید شده را حساب کنیم.

برای بررسی آزمایش توزیع زیست‌شناختی، از موشهای کوچک آزمایشگاهی استفاده شد. پس از تزریق در ورید دمی، بر طبق روش جاری بررسی زیست‌شناختی رادیوداروها، موشها را تشریح و آکتیویته اعضاء را تک‌تک شمارش کردیم و درصد جذب آکتیویته هر اندام، بخصوص قلب، مغز، معده، روده، کبد و خون مورد بررسی قرار گرفت.

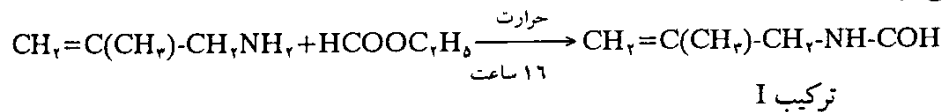
بحث و نتیجه‌گیری

ساخت کیت MIBI از سه جهت مورد بررسی قرار گرفت:

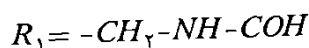
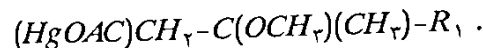
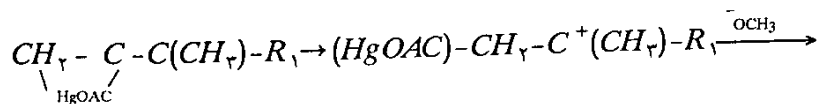
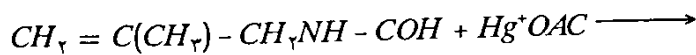
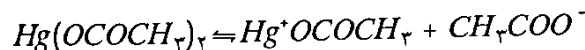
الف - سنتز لیگاند متوکسی ایزوبوتیل ایزوسیانید (MIBI) و کیلات آن

برای سنتز متوکسی ایزوبوتیل ایزوسیانید به فرمول $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OCH}_3)\text{CH}_2-\text{N}\equiv\text{C}$ مراحل به شرح زیر انجام شد:

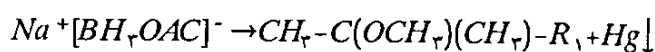
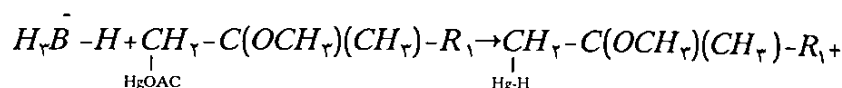
ماده شروع‌کننده عمل سنتز، ۲-متیل‌آلیل‌آمین‌هیدروکلراید است که با اتیل‌فورمات و عمل رفلاکس، گروه آمینی به گروه آمیدی تبدیل می‌شود:



سپس طی مراحل اکسیدکردن با ترکیب اکسیژن‌دار جیوه، گروه متوکسی ($-\text{OCH}_3$) به ترکیب I متصل می‌شود. نحوه عمل بدین صورت است که ابتدا یون مرکوریک حاصل از اسات مرکوریک، که یک الکتروفیل فعال است، در محل پیوند دوگانه ترکیب I ایجاد پل می‌نماید، و عامل متوکسی که نوکلئوفیلیک است، به اتم کربنی که کمبود الکترون دارد متصل می‌شود:

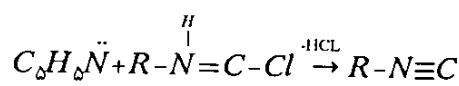
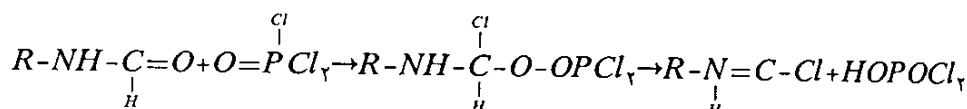


سرانجام به کمک ماده احیاء‌کننده سدیم بوروهایدراید جیوه را از ترکیب فوق خارج می‌سازیم:

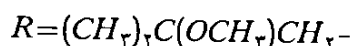


ترکیب II

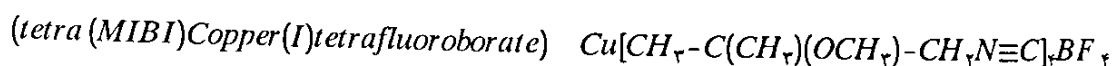
بعد از تهیه ترکیب II به طور خالص، عمل تبدیل عامل آمیدی (-NH-COH) به عامل ایزونیتریل (-N≡C) انجام می شود که در آن از عاملهای آبگری، مانند POCl_۳ در پیریدین، استفاده شده است:



ترکیب III (MIBI)



چون MIBI بدست آمده فرار، محرک و سمی است لذا آن را به کیلات پایدار



تبدیل کردیم

از هر ترکیب بدست آمده در مراحل فوق، طیف فرسرخ (IR) گرفته شد که نتایج آن در جدول ۱ نشان داده شده است. ضمناً نقطه ذوب کیلات MIBI بدست آمده ۸۵-۸۴ درجه سانتیگراد است که کاملاً با مرجع مربوط [۱] تطبیق می کند.

ب - فرمول بندی کیت MIBI:

کیت ایده آل تکنسیوم ۹۹m، کیتی است که با حداقل کار آماده سازی، حداکثر بازدهی را داشته باشد. بنابراین بیشتر کیت ها به صورتی تهیه می شوند که با افزودن محلول رادیو آکتیو پرتکتات سدیم عمل احیاء و تشکیل کمپلکس «لیگاند - تکنسیوم ۹۹m» در حداقل زمان ممکن انجام گیرد.

چون لیگاند MIBI به صورت کیلات در فرمول بندی کیت وارد می شود، عمل ایجاد کمپلکس با ^{۹۹m}Tc به طور کامل انجام نمی گیرد، یعنی پرتکتات سدیم پس از احیاء با کلراید قلع، نمی تواند مستقیماً به طور کامل با کیلات MIBI وارد واکنش شود؛ بنابراین لیگاند دیگری مورد نیاز است که ابتدا با ^{۹۹m}Tc احیاء شده، ترکیب شود سپس به کمک حرارت، بتدریج ^{۹۹m}Tc از آن جدا و به لیگاند اصلی، یعنی MIBI، متصل گردد تا کمپلکس MIBI-^{۹۹m}Tc با حداکثر بازدهی بوجود آید.

بهترین لیگاند کمکی برای واکنش تعویض لیگاند، اسید آمینه سیستین با فرمول $\text{HS-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$ است که به علت دارا بودن عوامل الکترون‌دهنده NH_2 و HS ، لیگاند مناسبی برای ایجاد کمپلکس اولیه با ^{99m}Tc تشخیص داده شد بطوری که با قراردادن در حمام آب جوش به مدت ده دقیقه، عمل تعویض لیگاند بین سیستین و MIBI انجام می‌شود. برای روشن شدن سازوکار تعویض لیگاند، آزمایش را به این صورت انجام دادیم که در یک ویال کلراید قلع و MIBI و در ویال دیگر علاوه بر این دو سیستین اضافه کرده و در شرایط یکسان (همزدن و حرارت دادن) نتایج مندرج در جدول ۲ را بدست آوردیم که نشان‌دهنده تاثیر خاصیت تعویض لیگاند سیستین می‌باشند.

جدول ۱- طول موج ترکیبات مراحل سنتز MIBI

ν/cm^{-1}		
۳۲۸۰	[N-H]	ترکیب I:
۳۰۶۰	amide overtone	
۳۰۴۰	Olefin	
۱۶۶۰	[HNC=O]	
۱۵۲۰	[amide II]	
۳۳۰۰	[N-H]	ترکیب II:
۳۰۶۰	amide overtone	
۱۶۷۰	[HNC=O]	
۱۳۵۰	[amide II]	
۱۱۶۰، ۱۱۸۰، ۱۰۷۰	[-OCH ₃]	
۱۱۸۰، ۱۱۶۰، ۱۰۷۰	[-O-CH ₃]	ترکیب MIBI:
۲۱۵۰	[-N≡C]	

جدول ۲- نقش سیستین در تشکیل کمپلکس $^{99m}\text{Tc-MIBI}$

درصد $^{99m}\text{Tc-MIBI}$		درصد $^{99m}\text{Tc O}_2$		درصد $^{99m}\text{TcO}_2$		محتوی ویال
۴ ساعت	۱۵ دقیقه	۴ ساعت	۱۵ دقیقه	۴ ساعت	۱۵ دقیقه	
۴۰/۲۵	۳۷/۰	۲/۹۵	۵/۱	۵۶/۸	۵۷/۹	Sn+MIBI
۹۹/۱۶	۹۹/۴۳	۰/۲۴	۰/۲	۰/۶	۰/۳۷	Sn+MIBI +Cysteine

قبلاً گفته شد که سازوکار تشکیل کمپلکس $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ ، از یک واکنش تعویض لیگاند تحت حرارت انجام می‌گیرد. برای روشن شدن این مطلب ابتدا درصد تشکیل کمپلکس را در دمای اتاق و سپس در دمای حمام آبجوش در مدت‌های مختلف مورد بررسی قرار داده‌ایم.

جدول ۳- تاثیر حرارت در سرعت تشکیل کمپلکس $^{99m}\text{Tc-MIBI}$

زمان و دما	درصد $^{99m}\text{TcO}_2$	درصد $^{99m}\text{Tc-O}$	درصد $^{99m}\text{Tc-MIBI}$
بلافاصله، دمای اتاق	۳۸/۶	۳۸/۵	۲۲/۸
۱۵ دقیقه، دمای اتاق	۳۳/۵	۱۱/۰	۵۵/۵
۳۰ دقیقه، دمای اتاق	۳۳/۳	۹/۰	۵۷/۷
۶۰ دقیقه، دمای اتاق	۳۱/۳	۵/۵	۶۳/۰
۲ دقیقه، در آبجوش	۳/۹۸	۱۰/۱۹	۸۵/۵۸
۵ دقیقه، در آبجوش	۲/۳	۱/۴۱	۹۶/۲۷
۱۰ دقیقه، در آبجوش	۰/۴۶	۰/۱۷	۹۹/۳۷
۱۵ دقیقه، در آبجوش	۱/۴	۱/۵	۹۶/۹۵
۲۰ دقیقه، در آبجوش	۰/۹۵	۲/۸	۹۶/۲

برای تهیه کمپلکس $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ با درصد بالای نشاندار شدن، دمای اتاق کافی نیست بلکه حتماً باید در حمام آبجوش گذاشته شود و زمان مناسب برای اینکار حدود ۱۰ دقیقه می‌باشد (جدول ۳).

یکی دیگر از مواد اصلی تشکیل‌دهنده کیت MIBI، قلع است که به عنوان عامل احیاء کننده پرتکتات ($^{99m}\text{Tc-O}$) عمل می‌کند. تاثیر مقدار قلع در بازده تشکیل کمپلکس $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ در جدول ۴ نشان داده شده است.

جدول ۴- تاثیر مقدار قلع در تشکیل کمپلکس $^{99m}\text{Tc-MIBI}$

$^{99m}\text{Tc-MIBI}$		درصد $^{99m}\text{TcO}_2$		درصد $^{99m}\text{Tc-O}$		مقدار قلع در کیت (میکروگرم)
بلافاصله	دو ساعت بعد	بلافاصله	دو ساعت بعد	بلافاصله	دو ساعت بعد	
۹۷/۷	۸۹/۲	۰	۰/۸	۰/۴	۱/۹	۵۰
۹۷/۷	۷۸/۷	۰/۰۲	۰/۷	۳	۱/۱	۶۵
۹۱/۴	۹۶/۴	۰/۰۱	۲/۳	۰/۸	۰/۸	۸۵
۹۵/۵	۹۵/۲	۰/۱	۲/۸	۲/۶	۱/۳	۱۰۵
۹۶/۶	۹۴	۰/۸	۱/۴۷	۱/۰	۱/۵	۱۲۵
۹۵/۸	۹۳/۷	۰/۴	۱/۴۳	۱/۳	۱/۵	۱۴۵

میزان کلرید قلع دو ظرفیتی در تشکیل کمپلکس $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ طبق جدول ۴ محدود است. ضمناً با توجه به پایداری کیت تا چند ماه پس از نگهداری، مقدار ۰/۷۵ میکروگرم در فرمول‌بندی نهایی کیت منظور شده است.

از عوامل مهم حصول بازده بالای تشکیل کمپلکس $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ ، میزان رقت نهایی کیت MIBI با پرتکتات و محلول

آب‌نمک ایزوتونیک می‌باشد. جدول ۵ این اثر را به خوبی نشان می‌دهد. لازم بذکر است که در روش (a) از حلال متانول و محلول آب‌نمک برای تعیین مقادیر ناخالصیهای رادیوشیمیایی $^{99m}\text{TcO}_2$ ، $^{99m}\text{TcO}_4^-$ استفاده شده، در حالیکه در روش (b) حلال اتانول بکار رفته است.

جدول ۵- تاثیر میزان رقیق‌سازی در بازده کمپلکس ^{99m}Tc -MIBI

روش (b) درصد ^{99m}Tc - MIBI		روش (a) درصد ^{99m}Tc - MIBI		حجم نهایی (ml)
۴ ساعت	۲۰ دقیقه	۴ ساعت	۲۰ دقیقه	
۹۴/۰	۹۷/۳	۹۹	۹۸/۷	۱
۹۲/۰	۹۲/۸	۹۸/۷	۹۸/۵	۲
۹۲/۸	۹۳/۴	۹۸/۶	۹۹	۳
۹۱/۰	۹۵/۲	۹۸/۸	۹۸/۸	۴
۸۸/۶	۹۳/۸	۹۷/۵	۹۷/۸	۵
۸۹/۸	۹۳/۰	۹۷	۹۸/۴	۶

جدول ۵ مبین این نکته است که در رقتهای ۱ تا ۳ میلی‌لیتر بازده نشاندار شدن کمپلکس حتی با گذشت چهار ساعت، بالای ۹۰ درصد است، ولی در رقت‌های بالاتر، این مقدار کاهش می‌یابد. چون کیت MIBI در مدتی کوتاه پایدار است بنابراین، رقت‌های بیش از ۴ میلی‌لیتر توصیه نمی‌شود.

چون در هر کیت MIBI مقادیر لیگاند، قلع و سیستین مشخص می‌باشند، لذا مقدار آکتیویته پرتکتات $^{99m}\text{TcO}_4^-$ اضافه شده به کیت نیز باید معین باشد. بنابراین، برای بررسی نقش غلظت یون $^{99m}\text{TcO}_4^-$ در واکنش، مقدار آن را تغییر داده و افزایش یا کاهش درصد تشکیل کمپلکس ^{99m}Tc -MIBI را در زمانهای قید شده تعیین کرده‌ایم. جدول ۶ بیانگر این موضوع است:

جدول ۶- تاثیر مقدار پرتکتات در تشکیل کمپلکس ^{99m}Tc -MIBI

درصد ^{99m}Tc -MIBI		درصد $^{99m}\text{TcO}_4^-$		درصد $^{99m}\text{TcO}_2$		پرتکتات (mCi)
۴ ساعت	۱۵ دقیقه	۴ ساعت	۱۵ دقیقه	۴ ساعت	۱۵ دقیقه	
۹۴/۹۷	۹۵/۵۸	۱/۴۳	۱/۶۲	۳/۶	۲/۸	۳۵/۰
۹۵/۶۴	۹۴/۹	۱/۹۶	۱/۶۱	۲/۴	۳/۵	۵۳/۰
۹۷/۱۴	۹۱/۴۹	۰/۲۶	۲/۵۶	۲/۶	۵/۹۵	۱۴۰/۰
۹۷/۲	۹۷/۷	۱/۲	۱/۱	۱/۶	۱/۲	۱۸۰/۰

چون مدت نگهداری در قفسه ۱۱ کیت‌های MIBI کمتر از شش ماه است، لذا مقادیر آکتیویته جدول مربوط به کیت‌های تازه تهیه

شده است. بنابر تجاربی که خود کسب کرده‌ایم، کیت‌های تولید شده در بخش رادیوایزوتوپ سازمان، دارای تاریخ انقضای چهارماهه با حداکثر اکتیویته ۱۵۰ mCi و خلوص رادیوشیمیایی بیش از ۹۰ درصد می‌باشند.

ج- کنترل کیفی ^{99m}Tc -MIBI

برای تعیین میزان خلوص رادیودارویی‌های محتوی ^{99m}Tc ، معمولاً از دو روش کروماتوگرافی و توزیع در بدن حیوانات آزمایشگاهی استفاده می‌شود.

۱- تعیین میزان خلوص رادیوشیمیایی ^{99m}Tc -MIBI به روش کروماتوگرافی

با روش معمول کروماتوگرافی ضمن تعیین مجموع درصد ناخالصیهای رادیوشیمیایی $^{99m}\text{TcO}_2$ و $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ، درصد خلوص رادیوشیمیایی ^{99m}Tc -MIBI نیز تعیین می‌شود. در این روش از حلالهایی نظیر آب نمک ایزوتونیک، استون، متانول، اتانول و کاغذهای کروماتوگرافی معمولی و ITLC با پوشش‌های سلیکاژل و آلومین، استفاده می‌شود. در بخش رادیوایزوتوپ، ما نیز از حلالها و کاغذهای کروماتوگرافی مختلف استفاده می‌کنیم و بهترین نتایج را به شرح زیر بدست آورده‌ایم:

- حلال متانول و کاغذ کروماتوگرافی واتمن شماره ۱ برای تعیین درصد ناخالصی رادیوشیمیایی $^{99m}\text{TcO}_2$

- حلال آب نمک ایزوتونیک و کاغذ کروماتوگرافی ITLC- Al_2O_3 برای تعیین درصد ناخالصی رادیوشیمیایی $^{99m}\text{TcO}_4^-$

- حلال اتانول با کاغذ کروماتوگرافی ITLC- Al_2O_3 برای تعیین ناخالصیهای $^{99m}\text{TcO}_2$ و $^{99m}\text{TcO}_4^-$ و درصد خلوص

^{99m}Tc -MIBI. در بخش رادیوایزوتوپ، هر سه روش فوق بطور موازی انجام می‌شوند. نمونه این آزمایش در جدول ۷ مشاهده می‌شود.

جدول ۷- تعیین درصد خلوص و ناخالصیهای رادیوشیمیایی کمپلکس ^{99m}Tc -MIBI به وسیله کروماتوگرافی

درصد ^{99m}Tc -MIBI	درصد $^{99m}\text{TcO}_4^-$	درصد $^{99m}\text{TcO}_2$	حلال	فاز ثابت
۹۸/۹	-	۰/۵	متانول	واتمن شماره ۱
۹۸/۹	۰/۶	-	آب نمک ایزوتونیک	ITLC سلیکاژل
۹۳/۰	۴/۸	۲/۲	اتانول	ITLC آلومین

با توجه به جدول ۷، میزان خلوص رادیوشیمیایی ^{99m}Tc -MIBI در روش استفاده از حلال اتانول چند درصد کمتر است. علت این است که هر دو ناخالصی و ^{99m}Tc -MIBI روی یک کاغذ قرار می‌گیرند و دقت تعیین مقدار درصد زیاد نیست. در صورتی که درصد واقعی مربوط به استفاده از دو حلال و کاغذ اول و دوم می‌باشد که هر یک بطور جداگانه مقدار ناخالصی رادیوشیمیایی را تعیین می‌کند.

۲- توزیع در بدن حیوانات آزمایشگاهی

کمپلکس $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ که ترکیبی چربی دوست است، بیشترین مقدار دفعی آن از طریق کبد - روده می‌باشد از این ترکیب، پس از تزریق در ورید دمی موش آزمایشگاهی، مقداری در حدود ۱/۳ درصد دوز تزریقی، جذب قلب حیوان می‌شود که تا ۳ ساعت تقریباً ثابت می‌ماند. علاوه بر دفع کبدی - روده‌ای مقداری نیز از طریق کلیه‌ها دفع می‌شود. جدول ۸، مقدار میانگین درصد جذب کمپلکس $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ را در مدت ۳۰ دقیقه در سه موش، پس از تهیه کیت و تا چهار ماه متوالی نشان می‌دهد.

جدول ۸- میانگین درصد جذب کمپلکس $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ در موش کوچک آزمایشگاهی

اندام حیوان	پس از تهیه	بعد از یکماه	بعد از دو ماه	بعد از سه ماه	بعد از چهار ماه
خون	۱±۰/۲	۰/۹±۰/۱	۱/۴±۰/۴۵	۰/۵۷±۰/۱۱	۰/۵۳±۰/۴۰
قلب	۱/۹۳±۰/۳۲	۲/۱۳±۰/۳	۲/۱۶±۰/۲۸	۲/۲±۰/۲۶	۱/۳۶±۰/۱۱
کبد	۱۹/۳۳±۲/۳۸	۱۸/۰±۰/۶۴	۱۸/۵۶±۲/۲۷	۲۱/۶۶±۲/۵۶	۱۶/۵۳±۳/۹۳
کلیه	۱۰/۶±۰/۹۵	۱۵/۴۳±۰/۳	۱۴/۶۳±۲/۷۱	۸/۸±۱/۱۱	۱۴/۸۶±۰/۱۱
معهه	۲/۵۶±۰/۵۱	۲/۴۶±۰/۷۵	۲/۰۳±۰/۱۱	۲/۳۶±۰/۲۵	۱/۷۳±۰/۳۰
روده	۳۳/۳۳±۲/۹۱	۳۲/۱±۴/۴۸	۲۹/۷±۲/۷۸	۳۶/۴۳±۲/۱۵	۲۴/۵۳±۶/۵

لازم به ذکر است که دوز جذبی کمپلکس $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ در کبد حیوان پس از گذشت ۳ ساعت به حدود ۱۰ درصد می‌رسد. با توجه به جدول ۸ و نتایج حاصل از فرمول‌بندی کیت MIBI در بخش رادیوایزوتوپ، مدت «نگهداری در قفسه» کیت مذکور چهار ماه در نظر گرفته شده است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری صمیمانه همکاران در قسمت کنترل زیست‌شناختی، بویژه خانم محمودخان و آقایان صابری و میرفلاح سپاسگزاریم.

References

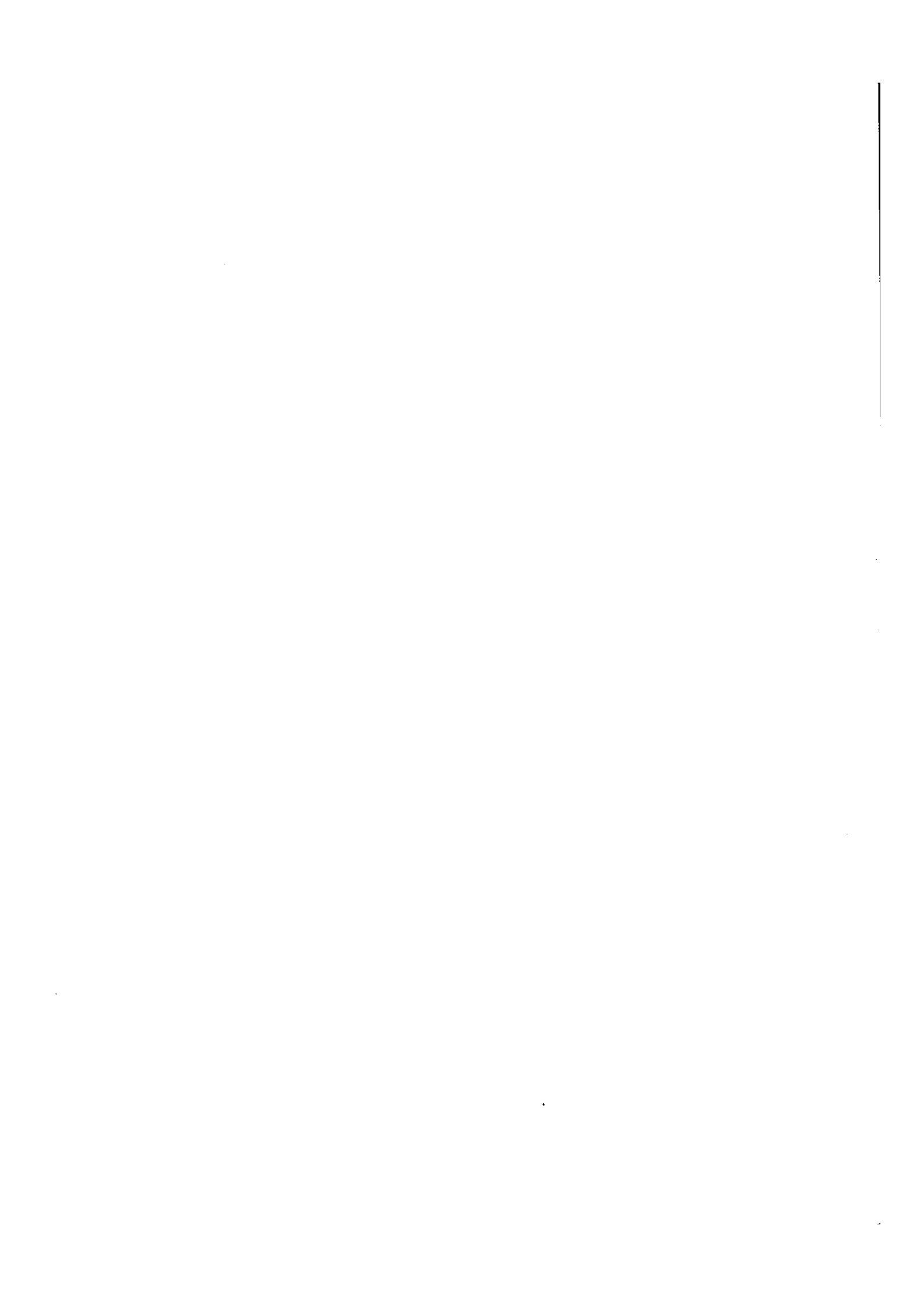
1. LAEA-RESEARCH CONTRACT NO. 6708/RB (1994). Preparation and quality control, of ^{99m}Tc -Methoxyisobutyl Isonitrile (MIBI) for myocardial Imaging.
2. EUROPEAN PATENT APPLICATION. publication number: 0233 368 A1. Ether Isonitriles and radiolabelled complexes thereof (26.08.87 Bulletin 87/35).
3. INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT). International publication number: WO 83/02615. Accelerators for forming cationic Technetium complexes useful as radiodiagnostic agent (1983).
4. M.J. Abrams, et al. Synthesis and characterization of Hexakis (alkyl isocyanide) and Hexakis (aryl isocyanide) complexes of technetium (I) Inorg chem. 22, 2798-2800 (1983).
5. C.M. Kennedy, et al, Technetium Carboxylate complexes - III. A new synthetic route to hexakis (isonitrile) Technetium (I) salts. APP. Radiat. Isot. 39:1179-1186, (1988).

SYNTHESIS, FORMULATION AND QUALITY CONTROL OF METHOXY ISOBUTYL ISONITRIL (MIBI) AS A ^{99m}Tc -RADIOPHARMACEUTICAL KIT FOR MYOCARDIAL PERFUSION SCINTIGRAPHY

*R. Najafi, A. Yaraghi, Gh. Shabani, T. Hadizad, H. Hamzei
M. Abdollahpoor, M. Dostfarrehi, Sh. Toloui
Radioisotope Division of Nuclear Research Center,
Atomic Energy Organization of Iran*

Abstract

^{99m}Tc -MIBI is a lipophile cationic Tc-99m complex which has been found to accumulate in viable myocardial tissue. In this article, the chemical structure of Isonitrils in particular Methoxy Isobutyl Isonitril (MIBI) as well as the procedures of synthesis, formulation of kit and labelling with ^{99m}Tc is discussed. Investigation of effective factors and finding the optimum parameters to obtain the highest labelling efficiency and radiochemical purity of ^{99m}Tc -MIBI complex is also included in this research work.



EXPERIMENTAL STUDY OF GENERALIZED SELF-FILTERING UNSTABLE RESONATORS IN AN ABLATIVE-WALL FLASH-LAMP-PUMPED DYE LASER

M. Mahmudi, A. H. Farahbod, A. Hariri

Laser Research Center

Atomic Energy Organization of Iran

The performance of a generalized self-filtering unstable resonator (GSFUR) that consists of two curved mirrors in a nonconfocal scheme with a low magnification of $M = -1.62$ in an ablative-wall flash-lamp dye laser is reported. The objective was to study the near- and far-field intensity distribution and the divergence of the laser beam. It was found that the output beam has a nearly Gaussian distribution with a pulse duration of ~ 400 ns FWHM, almost independent of the diameter of the field-limiting aperture, but increases slightly with the pumping rate. A diffraction-limited laser beam of 1.1 mrad was obtained from this laser cavity. The output energy was ~ 1 mJ when an intracavity glass plate was used as an output coupler. The required relations needed for the GSFUR design were also derived. 1998 Optical Society of America

OCIS codes: 140.2050, 140.4780, 140.3410, 140.0140, 230.5750.