



سنتر و نشاندارسازی عامل شلات‌کننده نوین استامیدوزانتات و بررسی کمپلکس آن با ^{99m}Tc

زهرا عرب‌حلوایی باقری^۱، الهام ستارزاده^۲، حسن یوسف‌نیا^۲، سید محمود رضا آقامیری^۱، سعید کاکایی^{۲*}

۱. پرتو پزشکی، مهندسی هسته‌ای، شهید بهشتی، ۴۷۱۶-۱۹۸۳۹، تهران- ایران

۲. پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، صندوق پستی، ۳۴۸۶-۱۴۳۹۵، تهران- ایران

چکیده

هدف از این مطالعه، سنتر عامل شلات‌کننده نوین استامیدوزانتات^۱، شناسایی و بررسی نشاندارسازی آن با ^{99m}Tc می‌باشد. ابتدا کمپلکس جدید با خاصیت شلات‌کنندگی، با ترکیب دو پیش ماده زانتات^۲ و کلرواستامید^۳ تهیه شده و سپس به منظور شناسایی محصول بدست آمده آنالیزهای طیف سنجی رزونانس مغناطیسی هسته^۴ و طیف‌سنجی مادون قرمز^۵ مورد استفاده قرار می‌گیرد. جهت بررسی میزان پیشرفت واکنش تکنیک کروماتوگرافی لایه نازک مورد استفاده قرار گرفت. پس از آن، مطالعه نشاندارسازی شلاتور استامیدوزانتات با رادیونوکلئید ^{99m}Tc که حاصل از دوشیدن ژنراتور ($^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$) می‌باشد، به روش مستقیم انجام خواهد گرفت. نتایج این مطالعه به منظور سنجش میزان بهینه‌ی نشاندارسازی و پایداری ترکیب تهیه شده، از طریق انجام تست^۶ و در مجاورت سرم آلبومین انسانی در پروژه‌های بعدی مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت. در صورت مثبت بودن نتایج به عنوان یک عامل رادیودارویی تشخیصی امیدوارکننده می‌تواند موثر واقع شود.

کلید واژه‌ها: ^{99m}Tc ، استامیدوزانتات، عامل شلات‌کننده، نشاندارسازی.

Synthesis of Acetamido xanthate as a novel chelating agent and Study of labeling with ^{99m}Tc

Zahra Arab Halvaiee Bagheri¹, Elham Sattarzade², Hasan Yousefnia², Seyed Mahmoudreza Aghamiri¹, Saeed Kakaie^{2*}

1. Medical Radiation, Nuclear Engineering, Shahid Beheshti, 19839-4716, Tehran- Iran

2. Radiation Application Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, 14395-3486, Tehran- Iran

Abstract

The aim of this study is synthesize Acetamido xanthate as a novel chelating agent with evaluate its stability and labeling with ^{99m}Tc . The novel complex with chelating properties is prepared based on a chemical reaction of xanthate and chloroacetamide, then NMR and FTIR spectroscopy was performed to characterization the prepared product. The acetamido xanthate chelator will be labeled directly by ^{99m}Tc radionuclide that is prepared from the generator ($^{99}\text{Mo} / ^{99m}\text{Tc}$). The results will be reported the next study in order to evaluate the optimal level of labeling and stability of the compound through RTLC test and in the presence of human albumin serum.

Keywords: ^{99m}Tc , Acetamido xanthate, Chelating agent, Labeling.

Email: sms339@yahoo.com

¹ Acetamido xanthate

² Xanthate

³ Chloroacetamide

⁴ Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

⁵ Fourier Transformed Infrared (FTIR)

⁶ Radioactive Thin Layer Chromatography (RTLC)

۱. مقدمه

در این تحقیق ابتدا ترکیب استامیدو زانتات سنتز و سپس بوسیله آنالیزهای طیف سنجی رزونانس مغناطیسی هسته و طیف‌سنجی مادون قرمز مورد شناسایی قرار می‌گیرد. در ادامه نیز نشان‌دارسازی آن با رادیونوکلئید تکنسیوم و تهیه- ^{99m}Tc AcX^۴ در شرایط بهینه نشان‌دارسازی با خلوص رادیوشیمیایی مورد مطالعه و بررسی قرار خواهد گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در این پروژه از شرکت Merck و Sigma آلمان خریداری شده و بدون هیچ فرآیند خالص‌سازی دیگری مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور بررسی و شناسایی ترکیب سنتز شده، از دستگاه طیف سنجی مادون قرمز (VECTOR22 FT-IR Spectrometer) و دستگاه رزونانس مغناطیسی هسته (Bruker-DRX-300 MHz) استفاده شد. جهت بررسی میزان پیشرفت واکنش تکنیک کروماتوگرافی لایه نازک^۵ مورد استفاده قرار گرفت.

۱.۲ سنتز عامل شلاته‌کننده استامیدو زانتات

این مرحله از طریق واکنش بین دو ماده کلرو استامید^۲ و زانتات^۱ در حلال آب، عامل شلاته‌کننده نوین استامیدوزانتات^۴ که شامل اتم‌های اکسیژن، گوگرد و نیتروژن به عنوان اتم‌های الکترون‌دهنده می‌باشد، تهیه شد.

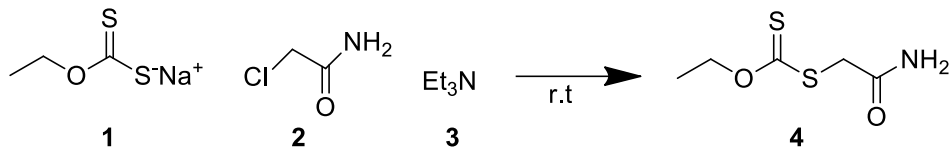
میزان ۲/۳ گرم از ماده کلرواستامید^۲ را در ۴۰ سی سی آب و همچنین ۳/۶ گرم از ماده زانتات^۱ را نیز در ۴۰ سی سی آب حل می‌کنیم. سپس دو ماده را در حال هم‌زدن و به صورت قطره قطره به یکدیگر اضافه می‌کنیم و محلول به رنگ زرد شفاف است. واکنش را در اولتراسونیک انجام می‌دهیم. پس از گذشت حدود نیم ساعت از شروع واکنش، محلول کدر شده و رسوبات شیری رنگی در آن ایجاد می‌شود. با استفاده از تکنیک تکنیک کروماتوگرافی لایه نازک پیشرفت واکنش را چک می‌کنیم. از فاز متحرک مخلوط EA:PE به نسبت ۴:۱ استفاده کردیم و عامل شلاته‌کننده نوین استامیدوزانتات^۴ که شامل اتم‌های اکسیژن، گوگرد و نیتروژن به عنوان اتم‌های الکترون‌دهنده می‌باشد، تهیه شد.

تولید ترکیبات نشاندار رادیواکتیو بی‌شک انقلابی در پزشکی هسته‌ای به شمار می‌رود. به طوری که از آن‌ها در موارد بالینی به منظور تشخیص و درمان عفونت‌های مختلف، سرطان و تومور استفاده می‌گردد [۱]. استفاده‌ی موثر از رادیوداروها منوط به ویژگی‌های دو بخش رادیو نوکلئیدی و شیمیایی آن می‌باشد. ملاحظات کلی تهیه و طراحی یک رادیو دارو جدید در قسمت رادیونوکلئیدی آن مبتنی بر دسترسی آسان، صرفه‌ی اقتصادی، نیمه عمر مطلوب بخش رادیونوکلئیدی، نیمه عمر بیولوژیکی کوتاه رادیو دارو، انتشار فوتون‌های گاما با انرژی مناسب (۱۰۰ تا ۲۰۰ کیلو ولت) می‌باشد [۲] در بخش شیمیایی، تهیه‌ی اکثر رادیوداروهای مورد نیاز بالینی نسبتاً آسان و در اشکال یونی، کلونیدی، ماکرو منجمد یا شلاته صورت می‌پذیرد [۳]. در این بین داروهای نشاندار با ^{99m}Tc به واسطه‌ی بهره مندی از ویژگی‌های انرژی مطلوب گاما (۱۴۰ کیلو الکترون ولت)، نیمه عمر مناسب (۶h) که منجر به پاکسازی سریع از بدن پس از اسکن می‌گردد [۲]، گستره وسیعی شامل بیش از ۸۰٪ موارد تحقیقاتی تشخیصی در پزشکی هسته‌ای را در بر گرفته اند [۶].

بسیاری از ترکیبات نشان‌دار با ^{99m}Tc مورد استفاده در پزشکی هسته‌ای توسط عوامل شلاته‌کننده تهیه می‌شوند. بدین معنی که در ترکیب مورد نظر، بیشتر از یک اتم، جفت الکترون‌های خود را به اتم گیرنده خارجی که معمولاً یک فلز واسطه می‌باشد می‌بخشد [۴]. به عنوان مثال می‌توان به ^{99m}Tc و سدیم پرتکنات برای اسکن تیروئید، متوکسی ایزوبوتیل ایزونیتیل ^{99m}Tc sestamibi^۱ برای تصویربرداری قلب، ^{99m}Tc دی اتیلن تریامین پنتا اسید استیک^۲ به منظور اسکن کلیه و ^{99m}Tc متیلن دی فسفونات^۳ جهت تصویربرداری از استخوان اشاره نمود [۲].

امروزه با وجود شلاتورهای متعددی که توسعه یافته و اکنون در پزشکی هسته‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند، همواره تلاش برای توسعه ترکیبات جدید با پایداری بهتر و نشان‌دارسازی آسان‌تر و فارموکنتیک مناسب‌تر ادامه دارد. ترکیب استامیدو زانتات یک عامل شلاته‌کننده جدید است که برای اولین بار در کشور سنتز شده و لذا بایستی خصوصیات پایداری و میزان نشان‌دارسازی بوسیله رادیونوکلئیدها توسط این عامل شلاته-کننده مورد بررسی قرار گیرد.

¹ MIBI² DTPA³ MDP⁴ ^{99m}Tc -Acetamido xanthate⁵ TLC



شکل ۱: نمای شماتیک سنتز ترکیب استامیدوزانتات ۴

ارتعاش کششی پیوندهای C-H است. همچنین، پیک قوی ظاهر شده در 1650 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوند $\text{C}=\text{O}$ گروه آمیدی است. پیک جذبی که در نواحی 1100 و 750 cm^{-1} دیده می‌شود به ترتیب مربوط به ارتعاش کششی ناقارن و مقارن CS_2 می‌باشند. پیک پهن و قوی گروه‌های آمین آزاد (NH_2) نیز در ناحیه 3350 cm^{-1} ظاهر شده است. همچنین پیک مربوط به ارتعاش پیوند C-N در 1250 cm^{-1} ظاهر شده است. این پیک‌های جذبی نشان می‌دهند که عامل کیلات کننده به صورت موفقیت آمیزی سنتز شده است.

همانطور که در طیف $^1\text{HNMR}$ قابل مشاهده است یک نوار در $1/44 \text{ ppm}$ مشاهده می‌شود که مربوط به گروه CH_3 متصل به CH_2 می‌باشد. نوار مشاهده شده در $3/85 \text{ ppm}$ مربوط به CH_2 متصل به گوگرد است و نوار مشاهده شده در $4/66 \text{ ppm}$ مربوط به CH_2 متصل به CH_3 است، همچنین در $5/77 \text{ ppm}$ و $6/27 \text{ ppm}$ نوارهایی قابل مشاهده است که مربوط به هیدروژن‌های گروه NH_2 می‌باشد، نوار مشاهده شده در $7/26 \text{ ppm}$ مربوط به حلال CDCl_3 است که در این ناحیه ظاهر می‌شود. (شکل ۳).

۲.۳ شبیه سازی ارزیابی میزان نشاندارسازی با $^{99\text{m}}\text{Tc}$:

شکل ۴ بازدهی نشاندارسازی ترکیبی مشابه با $^{99\text{m}}\text{Tc}-\text{AcX}$ را در حلال آب، اتانول و آمونیوم هیدروکسید نشان می‌دهد. در طیف RTLC حاصله، میزان نشاندارسازی برابر با 98% برآورد شده است. انتظار ما این است که ترکیب سنتز شده ما نیز رفتاری مشابه طیف زیر از خود نشان دهد که در ادامه پروژه بررسی و گزارش خواهد شد.

۲.۲ بررسی نشاندارسازی با $^{99\text{m}}\text{Tc}$

در مطالعات آتی $^{99\text{m}}\text{Tc}$ به شکل سدیم پرتکتات ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) از ژنراتور $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ دوشیده خواهد شد و در دمای اتاق با استفاده از محلول شست و شوی سالیین (سدیم-کلراید/۰/۹٪) به دست می‌آید. سپس میزان 5-15 mCi از پرتکتات در pH های مختلف ۲-۸ در محلول سالیین به ترکیب سنتز شده اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق آنکوبه خواهد شد. سپس به منظور بررسی میزان پایداری، رادیو دارو $^{99\text{m}}\text{Tc}-\text{AcX}$ به مدت حداقل یک نیمه عمر در دمای اتاق نگهداری و در فواصل زمانی مختلف از آن تست RTLC گرفته خواهد شد. میزان پایداری رادیو داروی مذکور در مجاورت سرم انسانی نیز به شیوه‌ی قبل و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد صورت قرار خواهد گرفت [۵].

۳.۲ کنترل کیفی ترکیبات با استفاده از تکنیک TLC:

نتایج آنالیز کروماتوگرافی لایه نازک مربوط به استامیدوزانتات که با استفاده از مخلوط حلالی اتیل استات^۱ و پترولیوم اتر^۲ به عنوان فاز متحرک و کاغذ واتمن به عنوان فاز ساکن مورد بررسی قرار گرفت، حاکی از پیشرفت واکنش به مرور زمان و کامل شدن آن پس از گذشت ۳ ساعت می‌باشد. به منظور شناسایی کمپلکس نشاندار $^{99\text{m}}\text{Tc}-\text{AcX}$ آنالیز کروماتوگرافی با استفاده از تکنیک RTLC صورت گرفت. به این ترتیب که ابتدا کاغذ واتمن (فاز ساکن) در مخلوط حلالی اتانول، آب و آمونیوم هیدروکسید (2:5:1 v/v) به عنوان فاز متحرک قرار گرفت. کمپلکس نشاندار شده به وسیله‌ی حلال شسته و در R_f بالاتر آشکار می‌شود [۵].

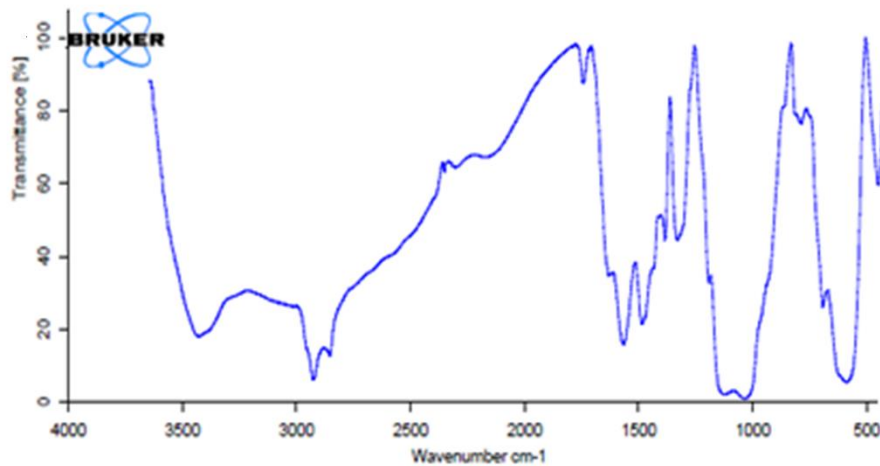
۳. نتایج

۳.۱ شناسایی کمپلکس شلات کننده

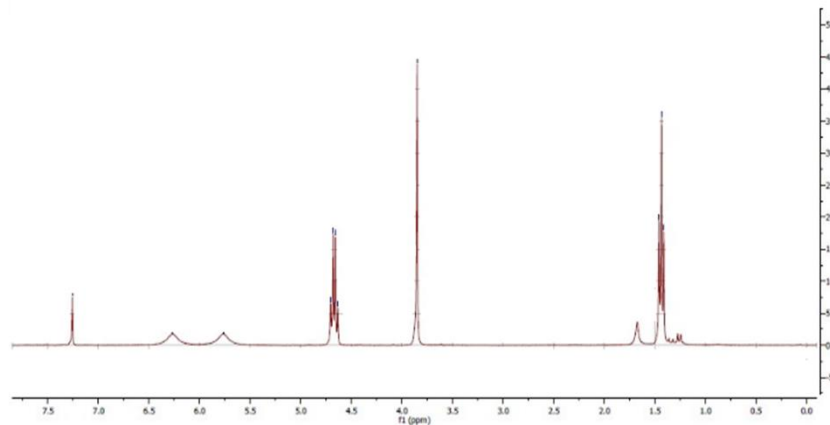
طیف فروسرخ ماده (۴) در شکل ۲ ارائه شده است. در ناحیه‌ی $2800-2900 \text{ cm}^{-1}$ یک پیک مشاهده می‌شود که مربوط به

² Petroleum Ether

¹ Ethyl acetate



شکل ۲. طیف مادون قرمز کمپلکس شلات‌کننده.



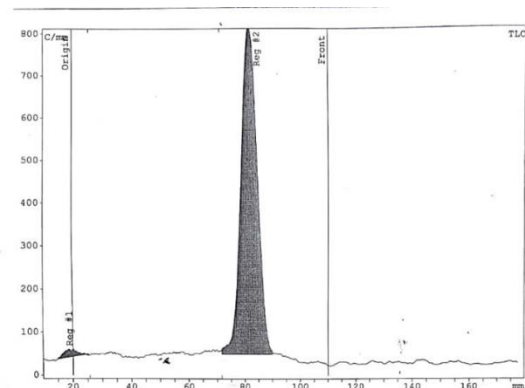
شکل ۳: طیف رزونانس مغناطیسی هسته‌ی مولکول شلات‌کننده.

۳.۳ بررسی ارزیابی میزان پایداری:

در انتها نیز خلوص رادیوشیمیایی ترکیب نشاندار ^{99m}Tc -ACX پس از گذشت ۶ ساعت به روش کروماتوگرافی لایه نازک مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت، که انتظار می‌رود هیچ تغییری ناشی از تجزیه‌ی کمپلکس مشاهده نشود، که نشان دهنده پایداری و ثبات بالای آن در مخلوط واکنش در دمای اتاق است.

۴. نتیجه‌گیری

در این مطالعه به تهیه و بررسی میزان نشاندارسازی ترکیب شلات‌کننده نوین استامیدوزانتات با پرکاربردترین رادیونوکلئید تشخیصی، ^{99m}Tc ، پرداخته شد. نتایج حاصل از آنالیزهای طیف‌سنجی مادون قرمز و طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته سنتز کمپلکس شلات‌کننده‌ی استامیدوزانتات را به خوبی



شکل ۴: طیف RTLC حاصل از نشاندارسازی ترکیبی مشابه با استامیدوزانت با ^{99m}Tc .

مراجع

- [1] M. U. Akbar et al. A review on evaluation of technetium-99m labeled radiopharmaceuticals, *JRNC*. 310, 2, p477 (2016).
- [2] M. I. Khan et al. Comparison of 99mTc Injected Activity with Prescribed Activity in Four Types of Nuclear Medicine Exams, *Curr Radiopharm*, 13, 1, p 80 (2020).
- [3] G. B. Saha, *Fundamentals of nuclear pharmacy*, 7th ed. (Springer, 2010).
- [4] S. J. Flora and V. Pachauri, Chelation in metal intoxication, *ijerph*. 7, 7, p2745 (2010).
- [5] M. Erfani et al. Optimization condition in labeling of Ofloxacin with 99mTc and its biological evaluation in Staphylococcus aureus and Escherichia coli for infection imaging, *irjnm*. 21, 1, p1(2013).
- [6] Ilse Zolle, editor, *Technetium-99m Pharmaceuticals*, (Springer, Berlin, Heidelberg, 2007).

تایید می‌کند. در ادامه این پروژه داده‌های درون تنی^۱ به دست خواهد آمد و از این مطالعه، پایداری ترکیب نشاندار ^{99m}Tc -AcX در دمای اتاق و همچنین در حضور سرم آلبومین انسانی مورد مطالعه قرار خواهد گرفت. افزون بر این در صورت بازدهی بالای ترکیب نشاندار حاصله نشان دهنده این خواهد بود که ترکیب نشاندار ^{99m}Tc -AcX با ویژگی‌های مطلوب قابل تولید و به عنوان یک عامل رادیودارویی تشخیصی امیدوارکننده می‌تواند موثر واقع شود که در این زمینه نیاز به مطالعات بیشتر است.

تشکر و قدردانی:

این تحقیق در قالب پروژه دانشجویی و با استفاده از اعتبارات پژوهشی پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای در حال انجام است. همچنین نویسندگان پیشاپیش از پژوهشکده کاربرد پرتوها برای فراهم کردن امکانات و تجهیزات جهت انجام این پروژه تقدیر و تشکر می‌نمایند.

¹ Invitro