



## داروی نشاندار راداکلرین-گالیوم-۶۸: یک عامل ترانوستیک جدید برای ادغام فتودینامیک

### تراپی و تصویربرداری هسته‌ای

فضائلی، سید یوسف\* (۱) - یاری، فاطمه (۲)

۱ پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کاربرد پرتوها، تهران-ایران

۲ دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، دانشکده فنی و مهندسی، گروه مهندسی هسته‌ای، تهران-ایران

### چکیده:

به سبب خواص تشخیصی برجسته رادیونوکلید گالیوم-۶۸ و رسانش هدفمند داروی ضد سرطانی راداکلرین، کمپلکس‌های رادیودارویی این ماده پورفیرینی با رادیونوکلید گالیوم-۶۸ سنتز شده و اطلاعات بیولوژیکی آن از قبیل ضریب تقسیم، کنترل کیفی، مطالعات پراکنش بافتی در انواع موش‌های صحرایی سالم و توموری مورد مطالعه قرار گرفت. این کمپلکس با خلوص رادیوشیمیایی قابل قبول و پایدار به مدت ۴ ساعت در فرمول نهایی و سرم انسان تهیه شد. تجمع بالای کمپلکس در تومور، شسته شدن سریع ترکیب از بدن و دز جذبی کمتر برای بیماران با استفاده از این ترکیب نشاندار مشاهده گردید. در این تحقیق با ترکیب تکنیک‌های تصویربرداری PET و قابلیت استفاده از راداکلرین در PDT برای مقاصد درمانی، یک عامل تصویربرداری PET/PDT جدید معرفی گردید.

کلمات کلیدی: راداکلرین، گالیوم-۶۸، پورفیرین، تصویربرداری هسته‌ای

### مقدمه:

تکنیک فتودینامیک تراپی (PDT) بر پایه استفاده از ترکیبات حلقوی تترا پیرولی نظیر پورفیرین‌ها، با افزایش دادن میزان گونه‌های اکسیژن فعال در سلول‌های سرطانی سبب آسیب در ارگان‌های درونی این سلول‌ها می‌شود و بهبود عملکرد ارگان‌های بدن را موجب می‌شود. ترکیباتی نظیر هماتو پورفیرین در این تکنیک برای درمان سرطان مورد استفاده واقع می‌شوند که از مزایایی نظیر عدم سمیت در تاریکی، پایداری شیمیایی، ورود گزینشی به سلول‌های سرطانی و تولید مقادیر بالایی از گونه‌های فعال اکسیژن بهره می‌برند. در راستای از بین بردن مشکل حلالیت پورفیرین‌ها در محیط بیولوژیک، این ترکیبات که دارای ساختار درشت حلقه‌ای و خاصیت چربی دوستی بالا می‌باشند، ساختار شیمیایی آنها به وسیله گروه‌های عاملی مختلف نظیر استر-اتر-آمین اسید کربوکسیلیک و کربوکسیلات و فنیل اصلاح گردیدند. این ترکیبات اصلاح شده تجمع بالا در تومور و سمیت بالای سلولی از خود نشان دادند [۱، ۲]. از سوی دیگر، تمایل فزاینده به تولید و استفاده از رادیونوکلیدهای PET (توموگرافی نشر پوزیترون) در داروسازی هسته‌ای فرصت‌های جدیدی را پیش روی محققان قرار داده تا بر تولید رادیوداروهای جدید تمرکز نمایند [۳-۶]. در این تحقیق سعی بر آن شد تا با



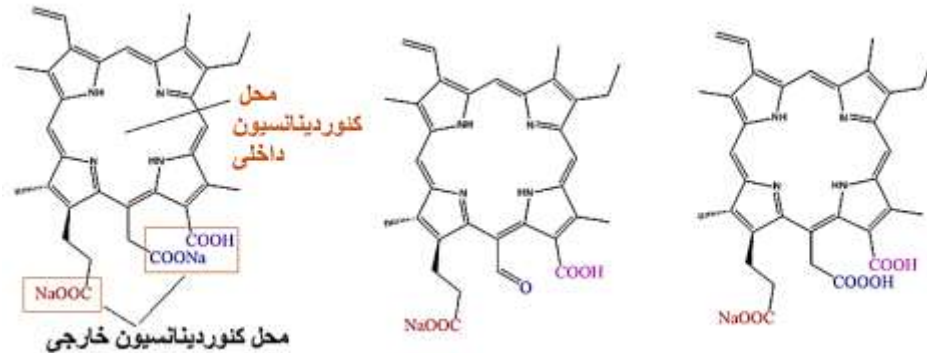
ترکیب خاصیت عالی کمپلکس پذیری گالیوم- $^{68}$  سه ظرفیتی با کمپلکسهای مسطح چربی دوست با بار خشی نظیر راداکلرین، توانایی گسیل بتای مثبت برای تصویربرداری PET و قابلیت استفاده از راداکلرین در PDT برای مقاصد درمانی، یک عامل تصویربرداری PET/PDT جدید معرفی گردد.

### روش کار :

۲ میلی لیتر محلول اسیدی گالیوم- $^{68}$  کلراید (۵ میلی کوری) به ویال ۳ میلی لیتری بوروسیلیکاتی انتقال داده شد. سپس جهت خارج کردن اسید کلریدریک، ظرف واکنش در دمای  $50-60$  درجه سانتی گراد حرارت داده شد و با بکارگیری جریان گاز نیتروژن، محلول خشک گردید.  $150$  میکرولیتر از محلول راداکلرین (۱ میلی گرم بر میلی لیتر)، به ظرف واکنش اضافه شد و pH مخلوط توسط بافر استات ( $450$  میکرو لیتر) به  $5/5$  رسانده شد. مخلوط حاصل به مدت ۲۴ دقیقه در دمای  $60$  درجه سانتی گراد ریفلاکس گردید. سپس محصول نهایی از میان یک فیلتر  $0/22$  میکرونی برای جداسازی ناخالصی های بیولوژیک و غیر بیولوژیک عبور داده شد و pH نهایی محصول بین  $5/5$  تا ۷ تنظیم شد. بعد از تهیه کمپلکس نشاندار برای بررسی خلوص رادیوشیمیایی و مشاهده درصد نشاندارسازی (نسبت کمپلکس گالیوم- $^{68}$  - راداکلرین به گالیوم- $^{68}$  کلراید) و همچنین انجام تست های پایداری آن، از روش رادیوکروماتوگرافی لایه نازک رادیواکتیو (RTLC) استفاده گردید [۱۲]. برای این منظور یک نمونه  $5$  میکرولیتری از محصول نهایی، روی یک کاغذ واتمن شماره ۲ لکه گذاری شد و در ظرف حاوی فاز متحرک دی تی پی ای  $0/1$  میلی مولار قرار داده شد. پس از مهاجرت کامل ( $10$  سانتی متر) فاز متحرک، کاغذ واتمن از ظرف خارج و خشک گردید. سپس توسط یک دستگاه اسکنر RTLC خوانش گردید. به منظور بررسی پایداری کمپلکس نشاندار شده در سرم انسانی،  $976$  میکروکوری از کمپلکس نشاندار شده به  $500$  میکرولیتر از سرم تازه انسانی اضافه شد و مخلوط حاصل در دمای اتاق به مدت ۴ ساعت انکوبه شد. سپس خلوص رادیوشیمیایی توسط رادیوکروماتوگرافی لایه نازک رادیواکتیو مورد بررسی قرار گرفت.

تصاویر هسته ای در  $60, 30$  و  $120$  دقیقه بعد از تزریق کمپلکس نشاندار شده از طریق ورید دمی موش، با استفاده از یک سیستم اسپکت دوسر (dual-head SPECT)، با میدان دید مفید (UFOV)  $540$  میلی متر در  $400$  میلی متر و از فاصله  $25$  سانتی متری، گرفته شدند. توزیع بیولوژیکی کمپلکس نشاندار بین بافت‌ها برای موش صحرائی توموری بلافاصله بعد از تصویربرداری تعیین شد. مقدار کلی رادیواکتیویته تزریق شده به هر موش  $0/1$  میلی لیتر بود.  $60, 30$  و  $120$  دقیقه بعد از تزریق، حیوانات بوسیله روش خفگی قربانی شدند. سپس بافت‌های (خون، قلب، شش، مغز، روده، مدفوع، پوست، معده، کبد، ماهیچه، کلیه و استخوان، تومور) با نرمال سالین شسته و وزن شدند و فعالیت ویژه آن‌ها توسط یک آشکارساز فوق خالص ژرمانیم مجهز به یک ابزار نگهدارنده نمونه، شمارش شد. میزان اکتیویته موش‌ها به صورت میانگین  $+ -$

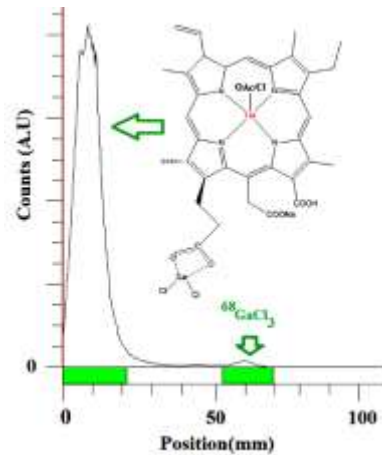
(انحراف استاندارد) و به واحد درصد دوز تزریق شده بر گرم بافت (میزان کل اکتیویته تزریقی \* وزن بافت / میزان اکتیویته در بافت = ID/g) بیان گردید.



شکل ۱. فورمولاسیون لیگاندهای داروی راداکلرین

### نتایج :

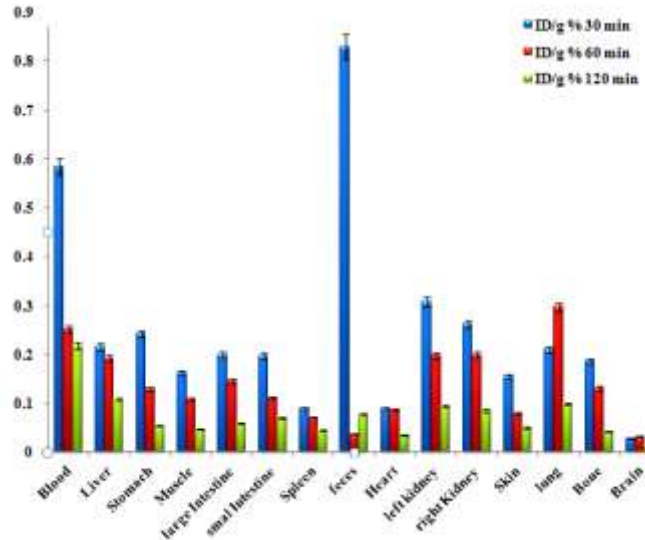
برای تشخیص میزان ترکیب نشاندار شده از کاتیون گالیوم آزاد، از سیستم کروماتوگرافی کاغذی رادیواکتیو مشابه با تحقیق قبلی با گالیوم-۶۷ استفاده شد. با استفاده از ۱۰ میلی لیتر محلول آبی DTPA ۰/۱ میلی مولار، گالیوم آزاد به  $R_f$  بالاتر جابجا شد (۰/۶)، این در حالی است که ترکیب نشاندار قابلیت ترکیب مضاعف با لیگاند DTPA را نداشته و در محل نقطه گذاری ( $0=R_f$ ) باقی می ماند. مطالعات رادیوکروماتوگرافی لایه نازک تشکیل ترکیبات نشاندار شده با خلوص ۹۷٪ را تأیید کرد (شکل ۲). انتظار می رود چربی دوستی کمپلکس گالیم-راداکلرین نسبتاً پایین باشد، نسبت فعالیت ۳-های ویژه فاز آلی و آبی،  $p$ ، برای ترکیب به pH محلول بستگی دارد. در pH برابر ۷ مقدار ضریب تقسیم برابر ۱/۱۴- بود، که نشان دهنده ۳-ی محلول در آب بودن ترکیب نشاندار شده است که با وجود فرمول شیمیایی لیگاندهای راداکلرین قابل پیش بینی بود (شکل ۱). کمپلکس نشاندار شده پایداری بسیار خوبی را در سرم آلبومین انسان، انکوبه شده در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴ ساعت نشان داد و هیچ مقداری از گالیم-۶۸ آزاد دیده نشد.



شکل ۲. رادیوگرام RTLC کمپلکس نشاندار راداکترین-گالیوم-۶۸

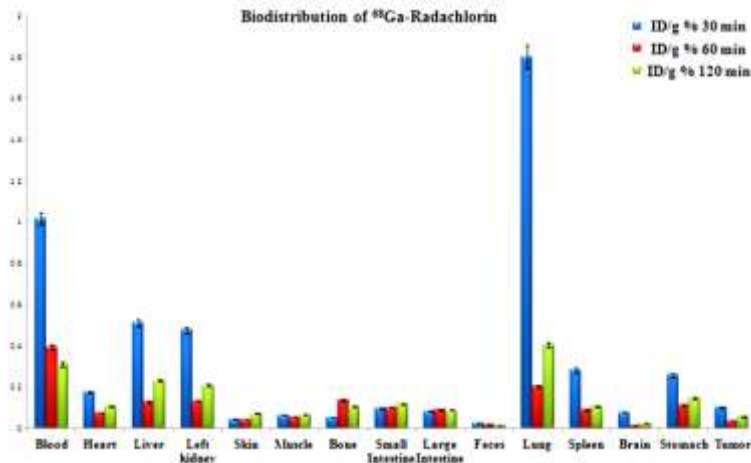
### بحث و نتیجه گیری :

برای بررسی بهتر مطالعات توزیع زیستی، دیاگرام‌های توزیع بیولوژیکی گالیوم-کلراید با گالیوم نشاندار شده رسم و با یکدیگر مقایسه شدند (شکل ۳ و ۴). نتایج درصد دوز تزریق شده بر گرم گالیوم کلراید در بافت موش طی زمان‌های ۱۲۰، ۶۰، ۳۰ دقیقه پس از تزریق داخل وریدی در شکل (۳) نشان داده شده است. ژنراتور ژرمانیوم-۶۸/گالیوم-۶۸ یک ژنراتور رادیودارویی برای استحصال رادیوایزوتوپ پوزیترون دهنده گالیوم-۶۸، با نیمه عمر ۶۸ دقیقه، از رادیوایزوتوپ ژرمانیوم-۶۸ با نیمه عمر ۲۷۱ روز است. این ژنراتور می‌تواند به راحتی برای تولید رادیوایزوتوپ گالیوم-۶۸ در محل بیمارستان برای تهیه اسکن ۳ بعدی PET مورد استفاده قرار گیرد. نیمه عمر کوتاه و قابلیت تصویربرداری PET از مزایای داروهای نشاندار گالیوم-۶۸ در مقایسه با داروهای نشاندار شده با گالیوم-۶۷ می‌باشد. با توجه به شکل مربوطه کاملاً مشهود است که کاتیون گالیوم دارای تجمع عمده‌ای در خون و مدفوع می‌باشد. همچنین به دلیل عملکرد تقلیدی کاتیون گالیم آزاد از یون کلسیم جذب استخوانی دیده و بقاء آن تا ۲ ساعت مشهود است. این کاتیون همانند یون کلسیم در آب محلول بوده و تجمع قابل انتظاری را در کلیه خواهد داشت. تجمع گالیوم آزاد در کبد به دلیل اتصال به پروتئین-های پلاسما می‌باشد و به همین دلیل تجمع نهایی در کبد اجتناب ناپذیر می‌باشد، گالیوم بطور عمده از طریق سیستم معده‌ای-روده‌ای دفع می‌گردد، بنابراین وجود اکتیویته تجمعی در کولون و مدفوع قابل پیش بینی است. به علاوه تجمع اکتیویته چشمگیری در ریه وجود دارد چرا که خون‌رسانی این بافت زیاد و اکتیویته‌ی موجود در خون بالا می‌باشد. تجمع اکتیویته در معده، ماهیچه و پوست قابل توجه می‌باشد. اکتیویته تجمعی در قلب، طحال و مغز ناچیز است.



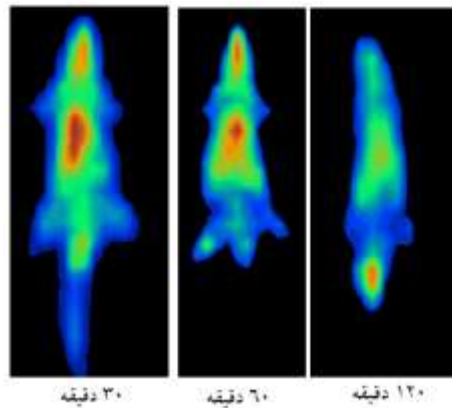
شکل ۳. دیاگرام توزیع بیولوژیکی گالیوم-<sup>68</sup> کلرید در موش های سالم (تعداد ۳ موش در هر بازه زمانی قربانی شده اند)

طی ۲ ساعت پس از تزریق، میانگین تجمعی دفع کمپلکس نشاندار- راداکلرین- گالیوم-<sup>68</sup> در مدفوع و ادرار معمولاً به ۱۵-۲۰ درصد دز داروی تجویز شده می‌رسد. انتشار این ترکیب نشاندار از طریق ساختار خون-رسانی به بافت‌های بدن و سپس انتشار از طریق سیتوپلاسم سلولی، لیزوزوم‌ها، میتوکندری و شبکه آندوپلاسمی می‌باشد.



شکل ۴. دیاگرام توزیع بیولوژیکی کمپلکس نشاندار راداکلرین- گالیوم-<sup>68</sup> در موش های توموری (تعداد ۳ موش در هر بازه زمانی قربانی شده اند)

شکل (۵) یک تصویر planar از موش صحرائی در زمان ۶، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق دارو ۶ می باشد که نشان دهنده ۶ سازگاری دیاگرام توزیع زیستی از ترکیب نشاندار شده با تصاویر PET است. همان طور که توضیح داده شد در نیم ساعت بعد از تزریق مکانیزم جذب راداکلرین در اندام ۶ های عروقی (کبد و طحال) بیشتر می ۶ باشد. همچنین تجمع عمده دارو در ناحیه فوق شکم مربوط به جذب ریه ۶ ها و تومور که دقیقاً در پشت ریه ها قرار دارد می ۶ باشد. در تمامی زمان ها پس از تزریق تجمع در مفاصل زانوها دیده می شود که از ویژگی های تجمع پورفیرین ها بوده و استفاده از PDT را در این ناحیه ها ممکن می سازد.



شکل ۵. دیاگرام تصویربرداری از موش ۶ های صحرائی مبتلا به تومور فیروسارکوما در زمان های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق

رادیداروهای پورفیرینی از طریق گیرنده ۶ های LDL از غشای سلولی عبور می کنند که یک مکانیسم اشباع پذیر است و وابسته به میزان دارو در داخل سلول می ۶ باشد. وزن مولکولی پایین و حلالیت بالا در چربی به عبور پورفیرین با این مکانیسم از غشا کمک می نماید. با این وجود لیپوفیلیسیته بالای ترکیب منجر به تجمع بالای ناخواسته در کبد خواهد گردید که نه تنها سمیت را بالا می برد بلکه منجر به کاهش تجمع در تومور گردیده که تصویربرداری را مشکل یا غیرممکن می نماید. مقدار ضریب تقسیم کمپلکس راداکلرین-گالیوم ۶۸، ۱/۱۴- (در pH برابر ۷) بود. این مقدار بدست آمده نشان دهنده ۶ محلول در آب بودن ترکیب نشاندار شده (لیپوفیلیسیته پایین) و در نتیجه سمیت پایین کبدی و تجمع بیشتر دارو در تومور می باشد. طبق مطالعات توزیع زیستی و تصاویر بدست آمده و جذب بالا و طولانی ترکیب نشاندار شده در بسیاری از ارگان های پر عروق، همچنین شسته شدن سریع دارو از بدن، زمان نیمه عمر کم رادیونوکلید-گالیوم-۶۸



در نتیجه مقدار کمتر دز جذبی به بیماران، ترکیب نشاندار تولید شده در این تحقیق می‌تواند یک انتخاب مناسب جهت کاربردهای تشخیصی بوسیله دستگاه تصویربرداری PET باشد. همچنین به علت تجمع بالای رادیو دارو در بافت ریه این دارو جهت شناسایی و درمان تومورهای ریه نیز می‌تواند مناسب باشد. امیدست با ادغام روش تشخیصی تصویربرداری PET با روش درمانی فتودینامیک تراپی با لیزر درمان سرطان با دقت بیشتر صورت پذیرد.

#### مراجع :

- [1]. J. F. Kelly, M. E. Snell, M. C. Berenbaum, Photodynamic Destruction of Human Bladder Carcinoma". *Br. J. Cancer*, 31(1975), 237-244.
- [2]. J. Lu, M. Liong, J.I. Zink, F. Tamanoi, Mesoporous silica nanoparticles as a delivery system for hydrophobic anticancer drugs. *Small*, 3 (2007) 1341-1346.
- [3]. Y. Fazaeli, S. Feizi, AR. Jalilian, A. Hejrani, Grafting of [(64)Cu]-TPPF20 porphyrin complex on Functionalized nano-porous MCM-41 silica as a potential cancer imaging agent. *Appl Radiat Isot.* 112 (2016) 13-9.
- [4]. A. Paknafas, Y. Fazaeli, AR. Jalilian, A. Ahmadi, S. Feizi, M. Kamalidehghan, A. Rahiminejad, A. Khalaj, Radiosynthesis and Quality Control of [(67)Ga]-3,4-dimethoxylated Porphyrin Complex as a Possible Imaging agent. *Iran J Pharm Res.* 2013 Fall;12(4):735-44.
- [5]. Y. Fazaeli, AR. Jalilian, MM. Amini, K. Ardaneh, A. Rahiminejad, F. Bolourinovin, S. Moradkhani, A. Majdabadi, Development of a (68)Ga-Fluorinated Porphyrin Complex as a Possible PET Imaging Agent. *Nucl Med Mol Imaging.* 46(1)(2012) 20-6.
- [6]. Y. Fazaeli, S. Shanehsazzadeh, A. Lahooti, S. Feizi, A. Jalilian, Preclinical dosimetric estimation of [111In] 5, 10, 15, 20-tetra phenyl porphyrin complex as a possible imaging/PDT agent. *Radiochimica Acta.* 104 (2016) 327-336.