

تهیه و کنترل کیفی ژنراتور درون بدنی روی-۶۲ سولفو نامید به عنوان یک عامل تصویربرداری PET

فیضی، شهزاد* - سید یوسف فضائلی حسینی نژاد

سازمان انرژی اتمی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کاربرد پرتوها

چکیده

تهیه یک ردیاب جدید بر اساس سولفونامید های حلقوی (سالتام ها) مورد بررسی قرار گرفت. سولفونامید حلقوی تهیه شده با رادیو ایزوتوپ روی-۶۲ (^{62}Zn) به منظور رسانش سریع و هدفمند درون تنی (*In Vivo*) و اهداف تصویر برداری نشان دار شد. نتایج حاکی از جذب سریع و بالای کمپلکس در تومور (نسبت تومور به خون ۴/۳۸ و نسبت تومور به ماهیچه ۹/۶۳) بوده که ترکیب نشان دار فوق را به عنوان یک رادیو داروی موثر در تشخیص و درمان سرطان فیبرو سارکوما معرفی می نماید.

واژگان کلیدی: تولید روی-۶۲، سولفونامید، تصویر برداری همزمان، توزیع زیستی

مقدمه

استفاده از رادیو دارو های تولید شده به وسیله سیکلوترون در دهه اخیر، فرصتی مناسب جهت تصویر برداری و پیگیری روند بهبود روش های درمانی را در اختیار محققان قرار داده است [۱و۲]. در این راستا، رادیو ایزوتوپ روی-۶۲ (^{62}Zn) (HL= 6.9 h, EC:3%, β^+ :97%) و رادیو ایزوتوپ دختر آن (^{62}Cu) با قابلیت ساطع نمودن پوزیترون مورد توجه دانشمندان بوده و تولید و نشاندار سازی آن ها مورد توجه واقع شده است. اخیراً ^{62}Zn -AMD3100 به عنوان یک ردیاب PET برای مطالعه در نمونه های توموری با CXCR4 مثبت پیشنهاد شده است [۳] و رادیو داروی ^{62}Zn -laserphyrin تجمع بالاتری را در بافت های سرطانی در مقایسه با دیگر رادیو دارو های PET نشان داد [۴]. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود، رادیو ایزوتوپ روی-۶۲ به واسطه واپاشی درون هسته ای، رادیو ایزوتوپ مس-۶۲ را به عنوان هسته رادیویی دختر تولید نموده [۵و۶]، از اینرو پس از نشاندار سازی سولفونامید

حلقوی، در تمام زمان بررسی ها نتایج زیستی و تصویر برداری از هر دو هسته پرتوزا حاصل می شود [۸ و ۷]. سولفونامید های حلقوی و ترکیبات همرده آنها به علت دارا بودن فعالیت های شیمیایی و زیستی گسترده در علوم دارویی بسیار مورد مطالعه قرار گرفته اند. این فعالیت ها شامل کاربرد به عنوان بازدارنده آنزیم های HIV integrase [۹]، carbonic anhydrase [۱۰]، COX-2 [۱۱]، MMP [۱۲]، HIV-1 protease [۱۳]، می باشد. این توانایی، بهمراه ویژگی های شیمیایی و دارویی منحصر بفرد رادیوایزوتوپ های روی-۶۲ و مس-۶۲، ترکیبات نشاندار سالتام را به عنوان کاندیدایی مناسب جهت تصویر برداری هسته ای و درمان سرطان معرفی می نماید. تلاش ما در اینجا بر روی سنتز، شناسایی و نشاندار سازی یک سولفونامید حلقوی جدید به عنوان یک ژنراتور درون بدنی دارویی برای اهداف PET متمرکز شده است.

مواد و روش ها

مواد

تولید ژنراتور رادیو دارویی روی-۶۲ / مس-۶۲ در گروه تحقیقاتی رادیو داروها سازمان انرژی اتمی با استفاده از سیکلوترون ۳۰ MeV (Cyclone-30, IBA) انجام شد. همه مواد شیمیایی از شرکت مواد شیمیایی سیگما آلدریچ (UK) خریداری شد. تمامی محاسبات بر پایه انرژی گاما ۵۹۶ و ۱۱۷۳ کیلو الکترون ولت برای روی-۶۲ و مس-۶۲ با استفاده از شناساگر HPGe انجام گردید.

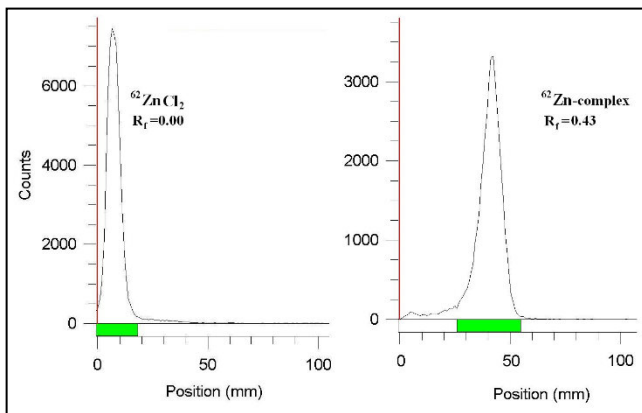
تهیه کمپلکس روی-۶۲ بنزو دلتا سالتام

۰/۱ میلی لیتر محلول روی-۶۲ با اسیدیته ۱ (pH=1) به فرم کلرید با میزان اکتیویته ۳ میلی کوری $[^{62}\text{Zn}]\text{ZnCl}_2$ (111 MBq, 3 mCi) به وسیله هیدروکلریک اسید ۰/۰۲ مولار از ژنراتور شسته شد و به ویال بوروسیلیکاتی با حجم ۳ میلی لیتر انتقال داده شد. محلول به منظور خشک شدن با استفاده از جریانی از گاز آرگون در دمای ۷۰-۶۰ درجه سلسیوس گرما داده شد. ۵۰ میکرولیتر از لیگاند 3-(Methoxy-phenyl-methyl)-1,6-dimethyl-1Hbenzo[c][1,2] thiazine 2,2-dioxide در اتانول مطلق با غلظت ۵ mg/ml به ویال حاوی روی-۶۲ افزوده شد و سپس در ادامه ۴۵۰ میکرولیتر بافر استات با pH ۶ به آن اضافه گردید. مخلوط به مدت ۶۰ دقیقه رفلاکس گردید. محلول فعال به منظور داشتن خلوص رادیو شیمیایی به وسیله RTLC مورد بررسی قرار گرفت. سپس

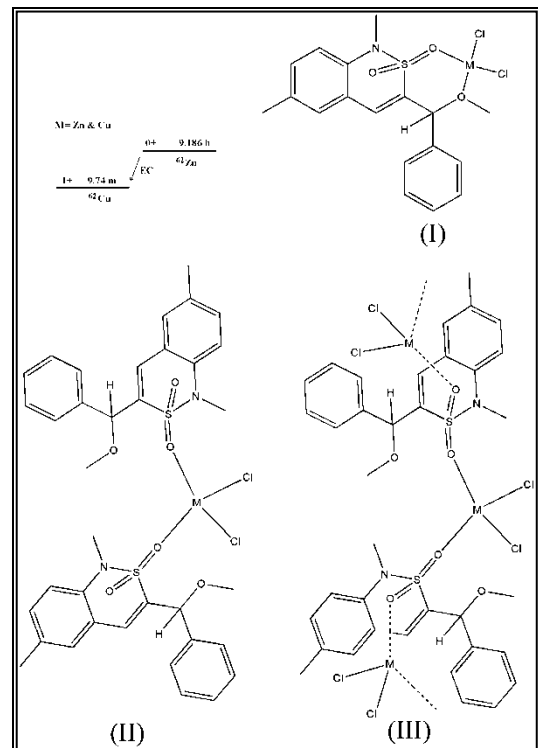
محللول نهایی به منظور عاری شدن از هر گونه میکرو ارگانیزم و اجرام اضافی از میان یک صافی ۰/۲۲ میکرومتری عبور داده شد و pH در ۷-۵ میزان گردید. در ادامه، رادیو داروی نهایی در یک ویال پلمپ شده در درون اتوکلاو به مدت ۱۶ دقیقه در دمای ۱۲۴ درجه سانتی گراد استریل گردید.

کروماتوگرافی لایه نازک رادیویی (RTLC) و کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC)

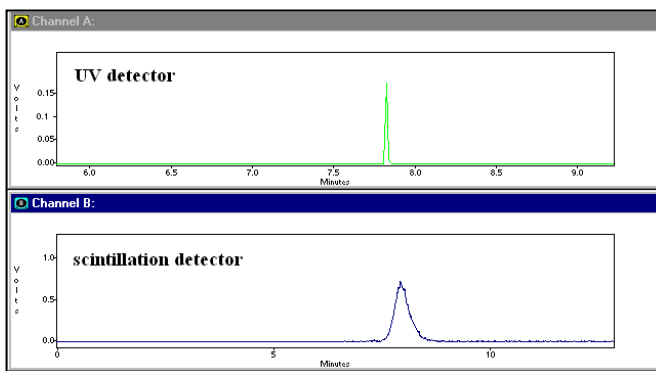
۵ میکرو لیتر از محلول کمپلکس نهایی بر روی کاغذ کروماتوگرافی واتمن شماره ۲ نقطه گذاری شد و در مخلوط فاز متحرک، ۱۰٪ NH₄OAc و متانول با نسبت ۱:۱، قرار داده شد (شکل ۲). کروماتوگرافی در شرایط شدت جریان ۱ ml/min و تحت فشار ۱۳۰ kgF/cm² به مدت ۲۰ دقیقه انجام گردید. این تکنیک با استفاده از مخلوط آب/استونیتریل با نسبت ۲:۳ (حجمی/حجمی) به عنوان فاز متحرک و ستون فاز معکوس Whatman Partisphere C18 4.6×250 mm به عنوان فاز ساکن انجام گردید (شکل ۳).



شکل ۲- رادیو کروماتوگرام کلرید روی-۶۲ (چپ) و کمپلکس روی-۶۲ (راست)، فاز متحرک: آمونیوم استات ۱۰٪: متانول با نسبت ۱:۱ و، فاز ثابت: کاغذ واتمن شماره ۲



شکل ۱- ساختارهای ممکن کمپلکس های مس و روی بنزو دلتا سالتام

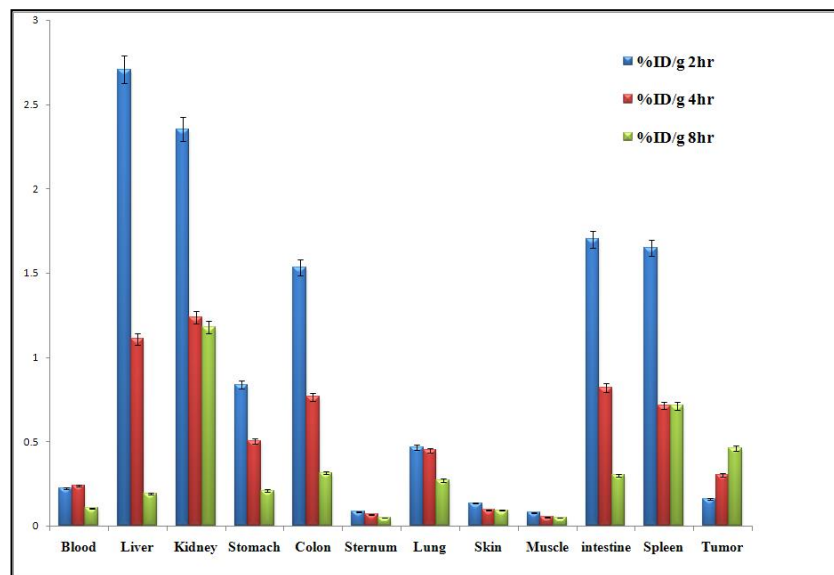


شکل ۳- کروماتوگرام HPLC کمپلکس روی-۶۲ (بالا): آشکارساز رادیواکتیو ماورای بنفش - مرئی، پایین: آشکارساز رادیواکتیو

توزیع زیستی در موش های صحرایی وحشی نژاد اسپراگ دالی ۱ دارای تومور فیبرو سارکوما

¹ Sprague Dawley

توزیع کمپلکس رادیو نشان دار شده در بین بافت های موش های صحرائی وحشی دارای تومور فیبرو سارکوما تعیین گردید. میزان رادیو اکتیویته تجویزی برای هر موش میزان $150 \mu\text{Ci}$ تعیین گردید و تزریق درون وریدی از رگ دم (نزدیک به انتهای دم) انجام شد. مقادیری از بافت تومور، کبد، کلیه، شش، قلب، ماهیچه و پوست بلافاصله بعد از قربانی کردن حیوانات در ۲، ۴ و ۸ ساعت پس از تزریق نمونه برداری شدند و سپس توزین گشته و با محلول نمکی نرمال شسته شدند. فعالیت ویژه مربوط به هر اندام/ بافت با آشکار ساز ژرمانیم فوق خالص ۱ (HPGe) به صورت درصد دز تزریقی بازای گرم بافت ها ($\text{ID/gr}\%$) تعیین گردید.



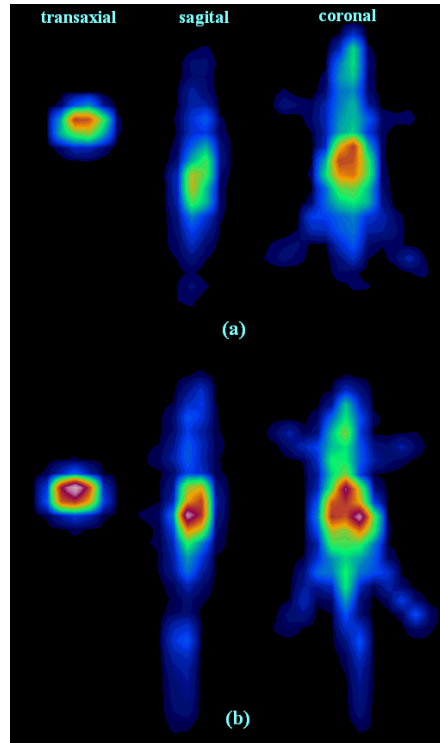
شکل ۴- توزیع زیستی کمپلکس روی-۶۷ در موش های صحرائی ۲، ۴ و ۸ ساعت پس از تزریق از ورید دمی

تصویر برداری همزمان کمپلکس روی-۶۷ در موش های صحرائی وحشی نژاد اسپراگ دالی نرمال

تصاویر ۲ و ۴ ساعت بعد از تزریق رادیو دارو به وسیله یک سیستم تصویر برداری همزمان گرفته شدند. فاصله موش تا آشکار ساز دوربین ۱۲ سانتی متر و حوزه دید مفید (UFOV) $400 \text{ mm} \times 540 \text{ mm}$ تعیین گردید.

¹ High-purity Germanium

نتایج و بحث



شکل ۵- تصاویر همزمان کمپلکس روی-۶۲ در موش های صحرایی ۲ (a) و ۴ ساعت (b) پس از تزریق

توزیع زیستی ترکیب نشان دار شده در شکل ۴ نشان داده شده است. به واسطه پایداری (شیمیایی و فیزیولوژیکی) و آبدوستی ترکیب نهایی عمده فعالیت در ۲، ۴ و ۸ ساعت پس از تزریق در کلیه ها، کبد و طحال مشاهده شد، بنابراین عمده مسیر دفع برای ترکیب نشان دار مسیر ادراری است. همان طور که در شکل ۵ نشان داده شده است، عمده قسمت فعالیت از طریق کبد و سیستم صفراوی دفع می شود. نسبت تومور به خون ۲، ۴ و ۸ ساعت پس از تزریق به ترتیب ۰/۷۰۹، ۱/۲۵ و ۴/۳۸ می باشد. نسبت تومور به ماهیچه ۲، ۴ و ۸ ساعت پس از تزریق به ترتیب ۱/۹۹، ۵/۶۸ و ۹/۶۳ می باشد. عمدتاً مشاهده شده که جذب تومور خیلی سریع است، که اهمیت انتخاب درست لیگاند و هسته پرتوزا را مشخص می سازد. به منظور مجسم کردن جذب بافت در موش های مورد مطالعه تصاویر انطباقی در ۲ و ۴ ساعت پس از تزریق گرفته شدند. تصویر برداری از موش ها تجمع مشخصی از ردیاب رادیویی در کبد، ناحیه شکمی و کلیه ها در تمام زمان های پس از تزریق نشان داد.

نتیجه گیری

کمپلکس عمدتاً از چرخه از طریق کبد و کلیه‌ها شسته شده و می‌تواند به واسطه جذب توموری بالا و دفع سریع از طریق ادرار به عنوان یک عامل تصویر برداری و درمانی موثر در برخورد با تومورهای سرطانی در نظر گرفته شود. بادر نظر گرفتن رفتار هدفمند کمپلکس روی -۶۲ سالتام، در ناحیه سینه، شستشوی سریع و نیمه عمر کوتاه ایزوتوپ های روی -۶۲ و مس -۶۲ می‌تواند یک گزینه مناسب برای کاربرد های تصویر برداری/هدف گیری به عنوان یک ژنراتور درون بدنی باشد.

مراجع

1. Blower PJ, Lewis JS, Zweit J. Copper Radionuclides and Radiopharmaceuticals in Nuclear Medicine. Nucl. Med. Biol. 1996;**23**:957
2. Qaim SM, Use of cyclotrons in medicine. Radiat. Phys. and chem. 2004;**71**:917.
3. Aghanejad A, Jalilian AR, Fazaeli Y, Beiki D, Fateh B, Khalaj Ali. Radiosynthesis and biodistribution studies of [⁶²Zn/⁶²Cu]- plerixafor complex as a novel in vivo PET generator for chemokine receptor imaging. J Radioanal Nucl Chem. 2014;**299**:1635-1644.
4. Tamura M, Matsui H, Hirohara S, Kakiuchi K, Tanihara M, et al. Selective accumulation of [⁶²Zn]-labeled glycoconjugated porphyrins a multi-functional positron emission tomography tracers in cancer cells. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2014;**22**: 2563-2570.
5. Fujibayashi Y, Matsumoto K, Yonekura Y, Konishi J, Yokoyama A. A new zinc-62 /copper-62 generator as a copper-62 source for PET radiopharmaceuticals. J. Nucl. Med. 1989;**30(11)**:1838-1842.
6. Lacy JL, Chien SC, Lim JK, Mathias CJ, Green MA. Modular automated Zn-62/Cu-62 PET radiopharmaceutical generator. J. Nucl. Med. 1995;**36**:49.
7. Matsumoto K, Fujibayashi Y, Yonekura Y. Application of the new zinc-62/copper-62 generator: An effective labeling method for Cu-PTSM. Nucl. Med. Biol. 1992;**19(1)**:39-41,43-44.
8. Robinson JGD, Zielinski FW, Lee AW. The Zinc-62/Copper-62 generator: a convenient source of Copper-62 for radiopharmaceuticals. Appl. Radiat. Isot. 1980;**31(2)**:111-116.
9. Smits RA, Adami M, Istyastono EP, Zuiderveld OP, van Dam CME, de Kanter FJJ, Jongejan A, Coruzzi G, Leurs R, de Esch IJP. Synthesis and QSAR of Quinazoline Sulfonamides As Highly Potent Human Histamine H4 Receptor Inverse Agonists. J. Med. Chem. 2010;**53(6)**: 2390–2400.
10. Kim CY, Whittington DA, Chang JS, Liao J, May JA, Christianson DW. Structural Aspects of Isozyme Selectivity in the Binding of Inhibitors to Carbonic Anhydrases II and IV. J. Med. Chem. 2002;**45**:888-893.
11. Inagaki M, Tsuru T, Jyoyama H, Ono T, Yamada K, Kobayashi M, Hori Y, Arimura A, Yasui K, Ohno K, Kakudo S, Koizumi K, Suzuki R, Kato M, Kawai S, and Matsumoto S. Novel Antiarthritic Agents with 1,2-Isotiazolidine-1,1-dioxide (γ -Sultam) Skeleton: Cytokine Suppressive Dual Inhibitors of Cyclooxygenase-2 and 5-Lipoxygenase. J. Med. Chem. 2000;**43(10)**:2040-2048.

-
12. Cherney RJ, Dayton RM, Meyer T, Hardman KD, Liu RQ, Covington MB, Qian M, Wasserman ZR, Christ DD, Trzaskos JM, Newton RC, Decicco CP. Sultam Hydroxamates as Novel Matrix Metalloproteinase Inhibitors. *J. Med. Chem.* 2004;47(12):2981-2983.
 13. Ali A, Reddy GSKK, Cao H, Anjum SG, Nalam MNL, Schiffer CA, Rana TM. Discovery of HIV-1 Protease Inhibitors with Picomolar Affinities Incorporating N-Aryl-oxazolidinone-5-carboxamides as Novel P2 Ligands. *J. Med. Chem.* 2006;**49(25)**:7342-7356.