تولید و کنترل کیفی رادیو داروی ایندیم-۱۱۱ پنتتروتاید (اکترواسکن) در ایران

فضائلی حسینی نژاد سید یوسف *، عرفانی مصطفی

۱-سازمان انرژی اتمی ایران، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کاربرد پرتو ها- تهران-ایران

چکیده:

رادیو داروی ایندیم ۱۱۱-پنتتروتاید هم اکنون به صورت وسیع در تشخیص انواع سرطان ها در علم پزشکی کاربرد دارد. اکتروتاید دارویی با ساختار مشابه سوماتواستاتین بوده که به صورت نشاندار شده با رادیو نوکلید ایندیم-۱۱۱ به صورت وریدی تزریق می گردد. این رادیو دارو به وسیله اتصال به گیرنده های سوماتواستاتین به عنوان یک عامل ترانوستیک عمل می نماید.در دهه اخیر ایندیم-۱۱۱پنتتروتاید به عنوان داروی تشخیص سینتیگرافی و تعیین پیشرفت تومورهای اولیه و متاستاتیک نورواندوکراین بیشترین مصرف را داراست. دراین مطالعه بطور دقیق کاربرد های این رادیو دارو به همراه استراتژی های تولید و کنترل کیفی مورد بررسی قرار گرفت.

کلمات کلیدی: *ایندیم ۱۱۱-پنتتروتاید، سوماتواستاتین، عامل ترانوستیک، تومورهای نورواندوکراین*

مقدمه:

اکتروتاید یک آنالوگ سوماتواستاتین بوده که شامل هشت آمینواسید می باشد. ایندیم-۱۱۱ با استفاده از DTPA به اکتروتاید شلاته گردیده و منجر به تشکیل رادیودارویی می گردد که ایندیم-۱۱۱ پنتتروتاید (اکترواسکن) نامیده می شود[۲،۱] . این گونه، فعال تر از هورمون های درون بدن است زیرا که به حمله آنزیم مقاوم است. شش نوع گیرنده سوماتواستاتین موجود است که فقط نوع ۲ و ۵ به پنتتروتاید متصل می گردد[۳، ۲] . نشان داده شده است که پنتتروتاید به گیرنده های سوماتواستاتین در سراسر بدن در مکان های توموری و غیر توموری متصل می گردد. بدلیل اینکه ٪۸۰ تومور های نورواندوکراین پانکراسی گیرنده های نوع ۲را بیان می دارند، عمده تومور های نورواندوکراین شکمی پاسخ مثبت به اکترواسکن می دهند[۲]. بعد از ورود به داخل سلول از طریق سیستم گیرنده های سوماتواستاتین، این گونه به

متابولیت نشاندار شده نهایی، ^{111}In-DTPA-D-Phe در لیزوزوم ها تبدیل می گردد[۴]. این متابولیت قادر به عبور از میان لیزوزوم و دیگر غشاهای سلولی نبوده و در درون سلول خواهد ماند. گونه مورد نظر سپس به محیط پیش هسته ای و سپس به داخل هسته جابجا می گردد[۵]. پنتتروتاید ۸۴٪ تا ۹۱٪ از تومور های نورواندوکراین را شناسایی کرده و در شناسایی تومور های نورواندوکراین پانکراسی بهتر از MIBG عمل می کند[۶] .

روش کار:

مراحل نشاندارسازی DTPA-D-Phe- اکتروتاید با ایندیوم-۱۱۱ و مطالعات کنترل کیفی و زیستی به شرح ذیل طی ۱۲ مرحله انجام گردید:

۱- انتقال ۱۴۰ میلی کوری رادیو نوکلید به ظرف واکنش (بالن ۵ میلی لیتری روداژدار)

۲- حرارت دادن ظرف واکنش تحت اتمسفر نیتروژن جهت خشک نمودن محلول و خروج HCl در مدت زمان تقریبی ۳۰ دقیقه

۳- اضافه نمودن یک میلی لیتر بافر استات ۰/۴ مولاربا pH ۴/۵.

۴- اضافه نمودن مقدار ۴۲۴ میکروگرم از پپتید در ۱۰۰ میکرو لیتر از بافر استات ۰/۴ مولاربا pH ۴/۵.

نکته: در طراحی این واکنش، ۱۰۰میکرو لیتر از بافر استات ۰/۴ مولاربا pH ۴/۵ در سایر نسبت ها نیز ثابت می باشد. بدین منظور ابتدا به ظرف حاوی ۱ میلی گرم از پپتید۲۳۵/۸ میکرولیتر از بافر اضافه نموده و خوب بهم زده شود سپس مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از آن مصرف شود و باقیمانده در دمای ۲-۸ درجه سانتی گراد نگهداری شود.

۵- اضافه نمودن پپتید به محلول حاوی اکتیویته و هم زدن محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط.

۶- تهیه محلول استاندارد جنتیسیک اسید (۲،۳ دی هیدروکسی بنزوئیک اسید) با مولاریته ۰/۲۶ مولار

نمونه انجام شده: مقدار ۴۰ میلی گرم از جنتیسیک اسید در یک میلی لیتر بافر استات ۰/۴ مولاربا pH ۴/۵ همراه با حرارت ملایم حل شود

۷- اضافه نمودن ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استاندارد جنتیسیک اسید ۰/۲۶مولار (معادل ۴ میلی گرم) پس از ۳۰ دقیقه از اضافه نمودن پپتید.

۸- اضافه نمودن یک میلی لیتر نرمال سالین ۰/۰۹٪ استریل به محلول و عبور از صافی. غلظت میزان رادیو اکتیویته: mCi/ml ۶۳/۶۳

۹- انتقال ماده نشاندار به ویال خلا با استفاده از سرنگ استریل.

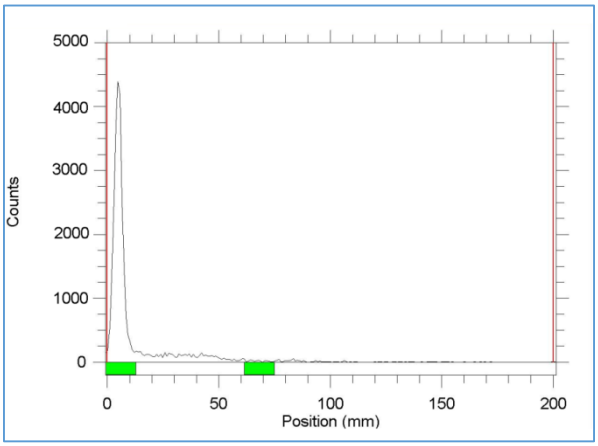
۱۰-انتقال نمونه جهت انجام آزمایشات کنترل کیفی: آنالیز های RTLC، HPLC، تست آ پیروژن (LAL).

۱۱-انجام مطالعات تصویربرداری: در ۲،۴و ۲۴ ساعت پس از تزریق رادیوداروی ایندیم پنتتروتاید و ایندیم کلرید به عنوان شاهد

۱۲-انجام مطالعات توزیع زیستی :مطالعات توزیع زیستی در ۲،۴و ۲۴ ساعت پس از تزریق رادیوداروی ایندیم پنتتروتاید و مقایسه با ایندیم کلرید به عنوان شاهد

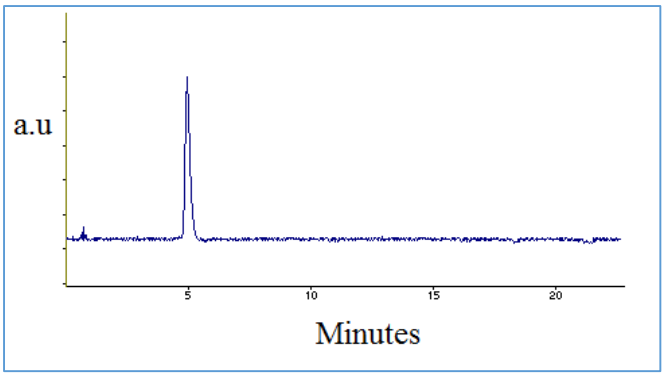
نتایج:

در راستای اندازه گیری دقیق میزان اکتیویه نشاندار شده و از بین بردن خطای حاصل از باقیماندن فیزیکی رادیو دارو در کارتریج از تکنیک کروماتوگرافی لایه نازک رادیو اکتیو استفاده شد. بازده نشاندار سازی با استفاده از تکنیک RTLC با سدیم سیترات ۰/۱ مولار با pH برابر ۵ به عنوان فاز متحرک و کاغذ سیلیکا مورد بررسی قرا رگرفت. تحت این شرایط ایندیم سیترات حاصل از کمپلکس شدن ایندیم کلرید همراه با حلال مهاجرت نمود(شکل ۱) و ایندیم- ۱۱۱ متصل شده به پپتید در مبدا باقی ماند. بازده نشاندار سازی در این روش میزان حداقلی ۹۸٪ گزارش گردید.



شکل۱. کروماتوگرام RTLC رادیو داروی ایندیم-۱۱۱ پنتتروتاید

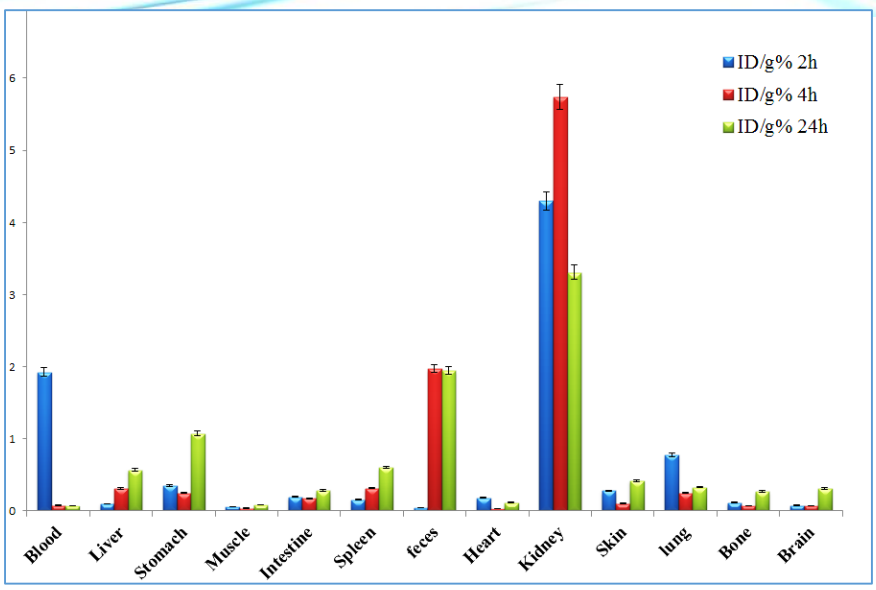
در ادامه جهت اندازه گیری خلوص رادیو شیمیایی محصول از آنالیز HPLC استفاده شد. آنالیز کروماتوگرافی مایع باکارایی بالا[۱] برای تعیین فعالیت ویژه با استفاده از دستگاه Shimadzu LC-10AT مجهز به آشکارساز دارای آنالیزور جریان برق از نوع Packard-150 TR و با استفاده از ستون واتمن (Whatman Partisphere C-18 column 100×4.6 mm) انجام گردید. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می شود با استفاده از حلال آب 0.1%TFA (تا دقیقه دوم) و حلال استونیتریل (در ادامه) پیک های مربوط به ایندیوم-۱۱۱ کلرید در ۰/۸۵ دقیقه و پیک رادیو دارو در ۵/۲۵ دقیقه ظاهر شد. آنالیز HPLC نیز خلوص ۹۸٪ رادیو دارو را تایید کرد.



شکل۲. کروماتوگرام HPLC رادیو داروی ایندیم-۱۱۱ پنتتروتاید

پس از تعیین میزان درصد خلوص شیمیایی، با استفاده از ویال تست آپیروژن (LAL کیت، Limulus amebocyte lysate) ، عدم حضور آندوتوکسین یا LPS در رادیودارو بررسی شد. بافت های خون، قلب، شش، مغز، روده، پوست، معده، کلیه، کبد، ماهیچه و استخوان ابتدا توسط نرمال سالین شسته و وزن گردیدند و اکتیویته ویژه با استفاده از آشکارساز فوق خالص ژرمانیم (HPGe) که مجهز به یک نگهدارنده نمونه بود به عنوان دز تزریقی در بافت‌ها به ازای یک گرم از بافت گزارش گردید(شکل ۳). تصاویر توسط دوربین گاما (Dual-Head SPECT) ثبت گردید. بهترین عرصه دید (UFOV) اندازه 540 mm×400 mm می‌باشد (شکل های ۴ و ۵).

[۱] **High Performance Liquid Chromatography**

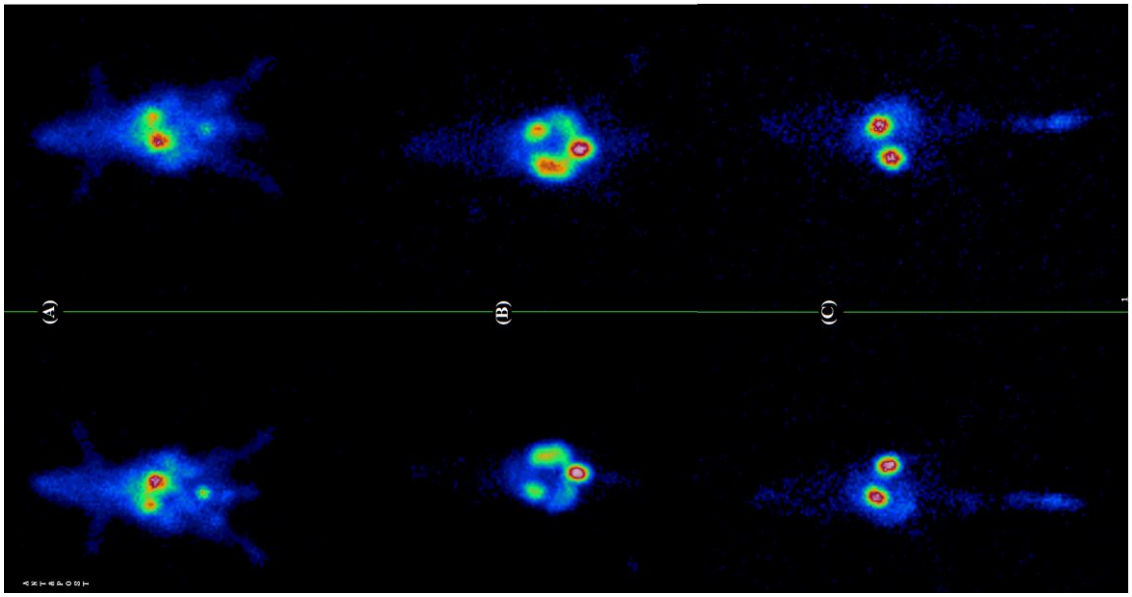


شکل۳. پراکنش زیستی [^{111}In]In-DTPA-OCT (1.85 MBq, 50μCi) در موش های صحرایی وحشی ۲،۴،۲۴ ساعت پس از تزریق از راه ورید دمی(ID/g٪:درصد دز تزریق هر گرم بافت)

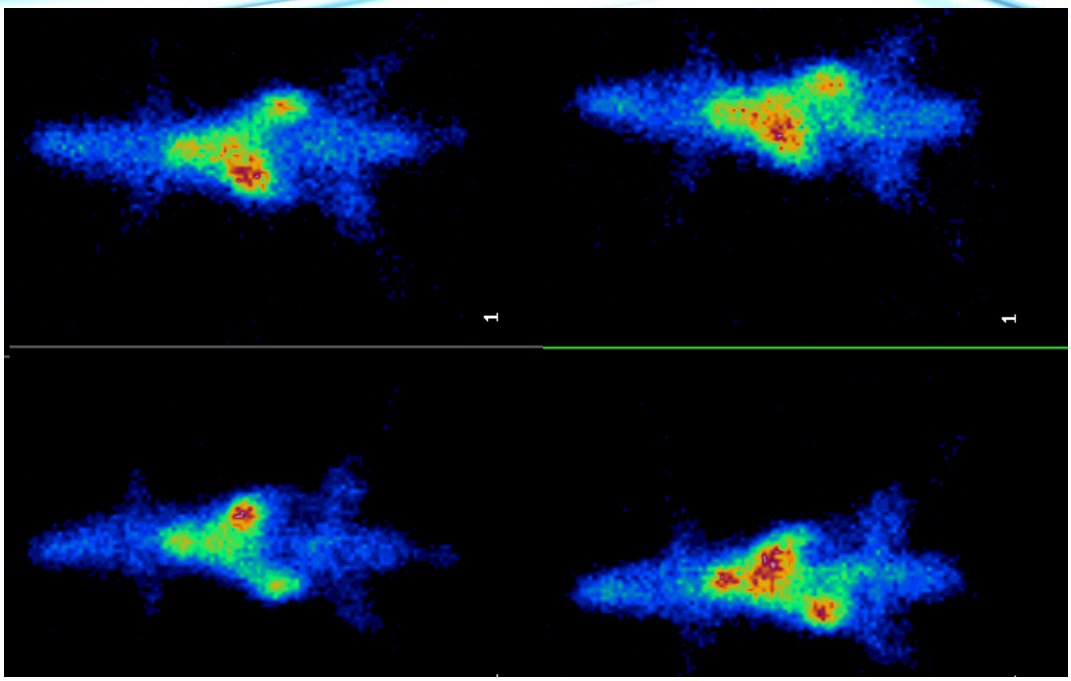
بحث ونتیجه گیری:

همان طور که در مطالعات نشان داده شده است، کاتیون ایندیم عمدتا رفتارمشابه با کاتیون آهن را نشان میدهد و به سرعت از طریق گردش خون حذف و در کبد جمع می گردد و قسمت عمده آن مشابه کاتیون محلول در آب از طریق کلیه دفع می گردد . پراکنش زیستی ترکیب نشان دار در شکل ۳ نشان داده شده است. به دلیل ماهیت پپتیدی و حلالیت آن در آب به عنوان کمپلکس یونی، بیشترین اکتیویته ۲، ۴ و ۲۴ ساعت بعد از تزریق در کلیه می باشد و بیشترین راه دفع از طریق ادرار بعد از ۶ ساعت می باشد. نکته حایز اهمیت نیمه عمر بیولوژیکی این رادیو دارواست که ۶ ساعت بوده و بدین سان بهترین زمان تصویر برداری ۶ ساعت اول پس از تزریق می باشد. همان طور که در شکل ۶ مشاهده میشود تقریبا ۴۰درصد از رادیو دارو در ۴ ساعت پس از تزریق از بدن خارج میشود و محتوای اکتیویته پس از دو ساعت از تزریق در کلیه ها بالاست. تصویربرداری [111In]In-DTPA-OCT ازموشهای صحرایی وحشی تجمع مولکول ردیاب نشاندار رادر ناحیه کلیه ها در تمام مدت بعد از تزریق نشان می دهد. در حالی که اسکن ایندیوم-۱۱۱آزاد اکتیویته

بالایی را در سینه و شکم دارد و تا ۴۸ ساعت در بدن موش باقی می ماند. با مقایسه تصاویر مربوط به رادیودارو با نمونه های مشابه انسانی و نمونه شاهد (ایندیم کلرید) عملکرد این رادیو دارو نیز مورد تایید قرار گرفت.



شکل ۴- تصاویر Planar ، رادیو داروی [111In]In-DTPA-OCT در موش های وحشی ۲(A) ، ۴(B) و ۲۴(C) پس از تزریق



شکل ۵- تصاویر Planar ، رادیو داروی [111In]In-Cl3 در موش های وحشی ۲(چپ) و ۴ (راست) ساعت پس از تزریق

در این پژوهش به تولید رادیو داروی ایندیم-۱۱۱ پنتروتاید جهت استفاده در تکنیک های تشخیصی و درمانی PRS و PRRT پرداخته شد. با توجه به روند سریع و روبه رشد استفاده از روش های فوق در تشخیص و درمان سرطان و امکانات موجود پژوهشگاه علوم وفنون هسته ای جهت تولید انبوه این رادیودارو، امید است اطلاعات ارائه شده در این تحقیق مورد استفاده دانشمندان حوزه تولید رادیوداروها قرار گیرد.

مراجع:

[1]. Krenning EP, et al. Somatostatin receptor scintigraphy with [111In-DTPA-D-Phe1]- and [123I-Tyr3]-octreotide: the Rotterdam experience with more than 1000 patients. Eur J Nucl Med 20(8): 716-31;1993.

[2]. Intenzo CM, et al. Scintigraphic imaging of body neuroendocrine tumors. Radiographics; 27: 1355-1369, 2007.

[3]. Reisinger I, et al. Somatostatin receptor scintigraphy in small-cell lung cancer: Results of a multicenter study. J Nucl Med; 39: 224-227,1998.

[4]. Kwekkeboom D, et al. Peptide receptor imaging and therapy. J Nucl Med; 41: 1704-1713, 2000.

[5]. Janson ET, et al. Nuclear localization of 111In after intravenous inhection of [111In-DTPA-D-Phe1]-Octreotide in patients with neuroendocrine tumors. J Nucl Med; 41: 1514-1518, 2000.

[6]. Ezziddin S, et al. Factors predicting tracer uptake in somatostatin receptor and MIBG scintigraphy of metastatic gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. J Nucl Med; 47: 223-233, 2006.