سنتز سونوشیمیایی ماده مؤثره HEDP به‌عنوان عامل استخوان‌خواه جهت تهیه رادیوداروهای تشخیصی و درمانی در پزشکی هسته‌ای

INC29-1186

سارا شوهانی[۱]، سعید کاکایی[۲]، فریبا جوهری دها [۲]، اعظم کاردان [۱]، الهام ستارزاده خامنه [۲*]

۱. دانشکده‌ی فیزیک، دانشگاه دامغان، صندوق پستی: ۴۱۱۶۷-۳۶۷۱۶، دامغان ـ ایران

۲. پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، صندوق پستی: ۳۴۸۶-۱۱۳۶۵، تهرن-ایران

چکیده:

در این تحقیق، بیس‌فسفونات اتیدرونات (HEDP) به‌عنوان یک عامل استخوان‌خواه که در تهیه رادیوداروهای مورداستفاده در پزشکی هسته‌ای با اهداف درمانی و تشخیصی و همچنین درمان متاستازهای استخوانی نقش قابل‌توجهی دارد، تهیه، شناسایی و موردبررسی قرارگرفته است. راندمان واکنش تهیه این ماده با استفاده از روش معمول در حدود ۶۸٪ تعیین گردید، که جهت بهبود راندمان واکنش و همچنین بهینه‌سازی شرایط انجام واکنش ازجمله زمان و کاهش واکنش‌های جانبی که در اثر مدت‌زمان طولانی انجام واکنش است، سنتز این ترکیب با استفاده از امواج اولتراسونیک و در شرایط مختلف شامل زمان و همچنین قدرت دستگاه نیز موردبررسی قرار گرفت که طبق نتایج به‌دست‌آمده در شرایط بهینه (زمان ۴۰ دقیقه، دمای 75 C° و قدرت ۴۰ وات) راندمان واکنش تا میزان ۸۹٪ بهبود پیدا کرد. بنابراین روش سونوشیمیایی به‌عنوان یک روش نوین و بهینه برای سنتز این ماده مؤثره پیشنهاد می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: پزشکی هسته‌ای، بیس‌فسفونات، HEDP، متاستازهای استخوانی، اولتراسونیک

Sonochemical synthesis of HEDP as an osteogenic agent for the preparation of diagnostic and therapeutic radiopharmaceuticals in nuclear medicine

S. Shouhani [1], S. Kakaei [2], F. Johari Daha [2], A. Kardan[1], E. Sattarzadeh Kameneh[2*]

1. School of Physics, Damghan University, P.O.BOX 36716-41167, Damghan, Iran.

2. Radiation Application Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, P. O. Box 11365-3486, Tehran – Iran

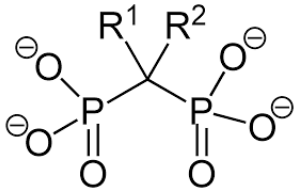
Abstract:

In this study, bisphosphonate (Etidronate) as is a bone seeking agent which used for preparing radiopharmaceuticals in nuclear medicine with therapeutic and diagnostic purposes, It has a significant role in the treatment of bone metastases, been prepared, characterized and investigated. Reaction efficiency of synthesis using usual method was determined about %68 in convenient procedure that in order to improve the reaction efficiency and also to optimize the reaction conditions including time and reduce side product and reactions that are carried out due to long time, the synthesis of this compound was also investigated using ultrasonic waves in different conditions including time and also the power of the device. According to the obtained results, ultrasonic waves make efficiency up to 89% at improved conditions (40 min, 75 ˚C, and power of 40 (w)). Therefore, this method (sonochemichal synthesis) is suggested as a novel and optimal method for the synthesis of this substance.

Keywords: Nuclear Medicine, Bisphosphonate, HEDP, Bone Metastasis, Ultrasonic.

۱. مقدمه

پوکی استخوان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مربوط به استخوان است که امروزه کیفیت زندگی میلیون‌ها بیمار را تحت تأثیر قرار داده است. این بیماری در بیش از ۵۰ درصد زنان وتقریبا از هر سه مرد در یک نفر مشاهده می‌شود. یک درمان دارویی که به‌صورت گسترده‌ای برای درمانی پوکی استخوان مورداستفاده قرار می‌گیرد، استفاده از داروهای مبتنی بر بیس‌فسفونات‌ها (BP) است. خواص درمانی این ترکیبات در اختلالات مربوط به استخوان (ازجمله پوکی استخوان و یا متاستازهای استخوانی) باعث شده است به‌عنوان یک عامل درمانی اصلی موردتوجه طرح‌های تحقیقاتی متعدد قرار گیرند [۱, ۲]. به این گروه از داروها به علت داشتن دو گروه فسفونات (PO_3) بیس‌فسفونات و یا دی‌فسفونات گفته می‌شود. این ترکیبات با از بین بردن استئوکلاست‌ها، مانع تحلیل رفتن استخوان‌ها می‌شوند در ساختار مولکولی بیس‌فسفونات‌ها وجود پیوند P-C-P، منجر به اتصال قوی این ترکیبات به هیدروکسی آپاتیت (HAP) که بافت استخوانی را تشکیل می‌دهد، می‌شود و آن‌ها را قادر می‌سازد که با غلظت‌های بالایی در این بافت‌ها تجمع پیدا کنند و بنابراین در مقایسه با داروهای غیراختصاصی اثر درمانی بسیار بالاتری از خود نشان می‌دهند. ساختار شیمیایی عمومی بیس‌فسفونات‌ها در شکل ۱ ارائه‌شده است که در آن، گروه‌های R خواص شیمیایی دارو را تعیین می‌کنند [۳, ۴].



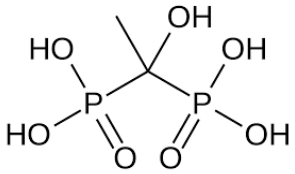
شکل ۱. ساختار کلی بیس‌فسفونات‌ها

ازنظر ساختاری و مکانیسم عمل، بیس‌فسفونات‌ها به دو دسته‌ی بیس‌فسفونات‌های غیرنیتروونی و آمینو بیس‌فسفونات‌ها تقسیم می‌شوند (جدول ۱).

جدول ۱. طبقه‌بندی بیس‌فسفونات‌ها بر اساس وجود یا عدم وجود نیتروژن در R_2

R_1	R_2	Bisphosphonate	
OH	CH_3	Etidronate	غیر نیتروژنی
Cl	Cl	Clodronate	
H	Chlorophenylthio	Tiludronate	
OH	$(CH)_2NH_2$	Pamidronate	نیتروژن‌دار
OH	$(CH_2)_5NH_2$	Neridronate	
OH	$(CH_2)_2N(CH_3)_2$	Olpadronate	
OH	$(CH_2)_3NH_2$	Alendronate	
OH	$(CH_2)_2N(CH_3)(CH_2)_4CH_3$	Ibandronate	
OH	3-Pyridylmethyl	Risedronate	
OH	1H-imidazol-1-ylmethyl	Zoledronate	

بیس‌فسفونات‌های غیر نیتروژنی به‌عنوان نسل اول این ترکیبات شناخته‌شده‌اند که برای تقویت استخوان، درمان پوکی استخوان و درمان بیماری پاژه استفاده می‌شوند [۵]. به دنبال آن‌ها سایر بیس‌فسفونات‌های حاوی نیتروژن مانند آلندرونات به‌عنوان داروهای نسل دوم [۶] و زولدرونات و ریزدرونات به‌عنوان داروهای نسل سوم معرفی شدند [۷]. بیس‌فسفونات‌های نسل اول منجر به مهار کمتری در استخوان می‌شوند اما عوارض جانبی کمتری نیز نسبت به بیس‌فسفونات‌های حاوی نیتروژن (نسل دوم و سوم) دارند [۸]. اتیدرونات اولین بیس‌فسفونات موردمطالعه برای درمان پوکی استخوان است. این ماده برای اولین بار در سال ۱۹۶۶ تولید و سال ۱۹۷۷ تأیید شد و به‌صورت گسترده‌ای در صنایع پزشکی مورداستفاده قرار گرفت (شکل ۲) [۹]. این دارو در اروپا و کانادا به‌صورت گسترده‌ای مورداستفاده قرار می‌گیرد و در مقایسه با بیس‌فسفونات‌های جدید به‌عنوان یک درمان کم‌هزینه شهرت دارد همچنین این ترکیب نه‌تنها بیماری‌های مختلف مربوط به پوکی استخوان را درمان می‌کند بلکه اختلالات عصبی را نیز می‌تواند درمان کند [۱۰].



شکل۲. نمای شماتیک ساختار اتیدرونات

در مقایسه با دیگر انواع درمان ازجمله شیمی‌درمانی، پرتودرمانی خارجی، هورمون درمانی و مسکن‌ها که برای کمک به تسکین درد و بهبود کیفیت زندگی در بیماران مبتلابه متاستازهای استخوانی استفاده می‌شود، اولویت قابل‌توجه درمان با رادیونوکلئیدهاست که دارای اثر درمانی در مراحل اولیه بیماری متاستاتیک بوده و با ترکیب با سایر درمان‌ها و تکرارپذیری آن همراه است [۱۱, ۱۲]. ایزوتوپ‌های تابنده بتا برای این روش درمانی استفاده‌شده‌اند ازجمله لوتشیم-۱۷۷، ساماریوم-۱۵۳، رنیوم-۱۸۶ و رنیوم-۱۸۸ و ... در بین این رادیو ایزوتوپ‌های ساطع کننده بتا، دو رادیو ایزوتوپ رنیوم با خواص متفاوت وجود دارد که برای دستیابی به نتایج درمانی بهتر موردبررسی قرارگرفته است. گزارش اولیه استفاده احتمالی از ^{186}Re-HEDP در درمان متاستازهای استخوانی در سال ۱۹۷۹ و اولین آزمایش بالینی در سال ۱۹۹۰ انجام شد [۱۳]. در سال ۱۹۹۸، Maxon و همکاران استفاده ایمن و کارآمد از ^{188}Re-HEDP را در بیماران مبتلابه متاستازهای استخوانی نشان دادند. پس‌ازآن، کارایی درمانی این عامل با بهبود کیفیت زندگی نشان داده شد [۱۴].

با توجه به علاقه‌مندی به تهیه ترکیبات دارویی و مورداستفاده در پزشکی هسته‌ای [۱۵-۲۰] و همچنین خواص منحصربه‌فرد بیس‌فسفونات‌ها، در این تحقیق ماده مؤثره HEDP به‌عنوان یک ترکیب استخوان‌خواه مورداستفاده در پزشکی هسته‌ای جهت اهداف تشخیصی و درمانی موردمطالعه و بررسی قرار گرفت. همچنین سنتز این ماده دارویی با استفاده از امواج اولتراسونیک انجام گرفت که منجر به بهینه‌سازی روش تهیه، کاهش زمان و افزایش راندمان واکنش گردید.

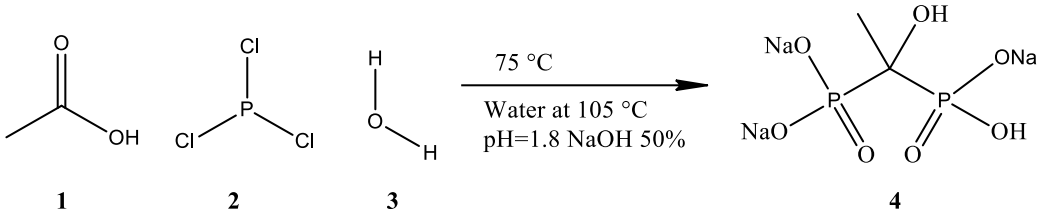
۲. روش کار

۲. ۱ مواد و روش‌ها

کلیه مواد شیمیایی مورداستفاده در این مطالعه از شرکت مرک آلمان خریداری و بدون هیچ‌گونه خالص‌سازی مورداستفاده قرار گرفتند. جهت شناسایی ماده تهیه‌شده از روش نقطه ذوب (Rheometric Scientific STA 1500)، روش‌های طیف‌سنجی مادون‌قرمز (VECTOR22 FT-IR Spectrometer) و رزونانس مغناطیسی هسته (Bruker-DRX-300 MHz) مورداستفاده قرار گرفتند. همچنین دستگاه اولتراسونیک (Misoui X3000, 35 KHz, 54W) جهت بهینه‌سازی روش سنتز مورداستفاده قرار گرفت.

۲. ۱ سنتز بیس‌فسفونات HEDP

در این تحقیق همان‌طور که در شکل ۳ ارائه‌شده است، در مرحله اول استیک اسید **۱** را در یک بالن ریخته و سپس فسفروس تری‌کلرید (PCl_3) **۲** به‌صورت قطره‌قطره به آن اضافه و مخلوط واکنش به مدت ۲۴ ساعت تحت دمای °۷۵C هم زده شد. سپس دمای واکنش به دمای محیط رسیده و مقداری آب **۳** به مخلوط واکنش اضافه و در ادامه واکنش به مدت ۴ ساعت در دمای °C ۱۰۵ هم زده می‌شود. با استفاده از محلول سود ٪۵۰، pH واکنش در حدود ۱٫۸ تنظیم گردید. پس از افزودن متانول و فیلتراسیون مخلوط واکنش، با استفاده از حلال اتیل‌استات کریستال گیری انجام گرفت و راندمان واکنش (با استفاده از مقادیر مولی و استوکیومتری) بیش از ٪۶۸ تعیین گردید.



شکل ۳: نمای شماتیک سنتز ماده مؤثره HEDP

محصول ۴ با اندازه‌گیری نقطه ذوب، طیف‌سنجی‌های IR و NMR مورد شناسایی قرار گرفت

در ادامه جهت بهینه‌سازی شرایط واکنش ازجمله کاهش زمان و محصولات جانبی و همچنین افزایش راندمان سنتز، واکنش موردنظر، با استفاده از امواج اولتراسونیک به‌عنوان منبع انرژی مناسب انجام و نتایج آن موردبررسی قرار گرفت که در جدول ۲ ارائه‌شده است.

جدول ۲: تأثیر قدرت و زمان امواج اولتراسونیک بر تشکیل محصول موردنظر

واکنش	زمان (دقیقه)	قدرت (وات)	دما (درجه سانتی گراد)	راندمان (درصد)
۱	۳۰	۱۰	۷۵	۱۹
۲	۳۰	۲۵	۷۵	۲۵
۳	۳۰	۳۰	۷۵	۴۱
۴	۳۰	۳۵	۷۵	۶۹
۵	۴۰	۴۰	۷۵	۷۷
۶	۴۰	۴۵	۷۵	۸۹
۷	۴۵	۴۵	۷۵	۷۳

۳. بحث و نتایج

محصول نهایی با استفاده از روش‌های طیف‌سنجی و اندازه‌گیری نقطه ذوب مورد شناسایی قرار گرفت. نقطه ذوب آن برابر ۱۰۹C° و اطلاعات حاصل از طیف‌سنجی در زیر ارائه‌شده است. که به‌خوبی سنتز مواقف این ماده را تأیید می‌کند.

^{1}H-NMR (D_2O): 1.63 (t, 3H), 4.88 (s, H_2O).

IR (KBr, υ cm^{-1}): 3500 (OH), 2395 (P-H), 1600 (O=P-O-H), 1140 (P=O)

همچنین جهت بررسی استفاده از امواج اولتراسونیک به‌عنوان یک منبع انرژی پاک و محیط دوست و جهت افزایش بهره محصول، واکنش را شرایط متفاوت انجام دادیم. ابتدا با افزایش توان امواج اولتراسونیک از ۱۰ وات به ۴۰ وات، بازده (۴) افزایش خطی را از ۱۹٪ به ۶۹٪ برای زمان تابش ۴۰ دقیقه نشان داد. بااین‌حال، با افزایش قدرت اولتراسوند به ۴۵ وات، درحالی‌که زمان تابش اولتراسوند همان ۴۰ دقیقه بود، بازده (۴) ابتدا افزایش یافت، سپس کاهش جزئی را برای دوره‌های بیش از ۴۰ دقیقه نشان داد (جدول ۲، واکنش۶). زمانی که قدرت اولتراسوند ثابت و زمان تابش به ۴۵ دقیقه افزایش یافت، (جدول ۲، واکنش ۷). بازده واکنش شروع به کاهش پیدا کرد؛ بنابراین بهترین شرایط در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد، زمان ۴۰ دقیقه و توان ۴۵ وات حاصل گردید.

۴. نتیجه‌گیری

متاستازهای استخوانی شایع‌ترین بدخیمی سیستم اسکلتی می‌باشند که با تشخیص زودهنگام این ناهنجاری‌ها می‌توان گام مهمی در مدیریت این بیماران برداشت. بیس‌فسفونات‌ها دارای کاربرد فراوانی در پزشکی هسته‌ای جهت تشخیص و درمان متاستازهای استخوانی دارند. در این تحقیق، ترکیب اتیدرونات (HEDP) با موفقیت سنتز و مورد شناسایی قرار گرفت. راندمان واکنش ۸۹٪ تعیین گردید. همچنین بهینه‌سازی روش سنتز آن با استفاده از امواج اولتراسونیک موردبررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که بهترین شرایط در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد، زمان ۴۰ دقیقه و توان ۴۵ وات حاصل گردید؛ بنابراین سنتز ماده مؤثره HEDP با استفاده از یک منبع انرژی مناسب، منجر به سنتز بهینه این ماده در زمان و دمای کمتری شد.

۵. تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب پروژه مصوب و با استفاده از اعتبارات پژوهشی پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای در آزمایشگاه سنتز پژوهشکده کاربرد پرتوها انجام‌شده است، لذا نویسندگان جهت حمایت‌های مالی و معنوی آن مرکز صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایند.

۶. مراجع

1 Goode, S.C., T.F. Wright, and C. Lynch, Osteoporosis screening and treatment: a collaborative approach. The Journal for Nurse Practitioners, 2020. 16(1): p. 60-63.
2 Russell, R.G.G. Bisphosphonates: the first 40 years. Bone, 2011. 49(1): p. 2-19.
3 Weinstein, R.S. P.K. Roberson, and S.C. Manolagas, Giant osteoclast formation and long-term oral bisphosphonate therapy. New England Journal of Medicine, 2009. 360(1): p. 53-62.
4 Vasikaran, S.D. Bisphosphonates: an overview with special reference to alendronate. Annals of clinical biochemistry, 2001. 38(6): p. 608-623.
5 Ioachimescu, A. and A. Licata, Etidronate: What is its place in treatment of primary osteoporosis and other demineralizing diseases today? Current osteoporosis reports, 2007. 5(4): p.۱۶۹-۱۶۵ .
6 Grey, A. and I.R. Reid, Differences between the bisphosphonates for the prevention and treatment of osteoporosis. Therapeutics and clinical risk management, 2006. 2(1): p. 77.
7 Pourgonabadi, S. et al. Effect of zoledronate, a third-generation bisphosphonate, on proliferation and apoptosis of human dental pulp stem cells. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 2018. 96(2): p. 137-144.
8 Rogers, M.J. et al. Biochemical and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. Bone, 2011. 49(1): p. 34-41.
9 Fischer, J. and C.R. Ganellin, Analogue-based drug discovery. Chemistry International-Newsmagazine for IUPAC, 2010. 32(4): p. 12-15.
10 Li, K. et al. Pretreatment-etidronate alleviates CoCl2 induced-SH-SY5Y cell apoptosis via decreased HIF-1α and TRPC5 channel proteins. Neurochemical research, 2019. 44(2): p. 428-440.
11 Lee, K.S. and B.H. Chung, Radiopharmaceutical therapy in metastatic CRPC, in Management of Advanced Prostate Cancer. 2018, Springer. p. 175-179.
12 Handkiewicz-Junak, D. et al. EANM guidelines for radionuclide therapy of bone metastases with beta-emitting radionuclides. European journal of nuclear medicine and molecular imaging, 2018. 45(5): p. 846-859.
13 Maxon 3rd, H. et al. Re-186 (Sn) HEDP for treatment of painful osseous metastases: initial clinical experience in 20 patients with hormone-resistant prostate cancer. Radiology, 1990. 176(1): p. 155-159.
14 Beiki, D. et al. Effectiveness and complications of 188Re-HEDP in palliative treatment of diffuse skeletal metastases. 2015.
15 Sattarzadeh, E. et al. 68Ga-radiolabeled magnetic nanoparticles for PET–MRI imaging. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2018. 317(3): p. 1333-1339.
16 Pourmanouchehri, Z. et al. Magnetic Nanocarrier Containing 68Ga–DTPA Complex for Targeted Delivery of Doxorubicin. Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials, 2018. 28(5): p. 1980-1990.
17 Khameneh, E.S. et al. Preparation of dual-modality yttrium-90 radiolabeled nanoparticles for therapeutic investigation. Radiochimica Acta, 2018. 106(11): p. 897-907.
18 Tayeri, H. et al. Optimized production, quality control and biological assessment of 68-Ga-bleomycin as a possible PET imaging agent. Int J Radiat Res, 2020. 18(2): p. 23.۲۴۱-۵
19 Kakaei, S. H. Sid Kalal, and H. Hoveidi, Ultrasound Assisted One-pot Synthesis of Dihydropyrimidinones Using Holmium Chloride As Catalyst. Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran, 2015. 26(2): p. 117-123.
20 Kakaei, S. and E.S. Khameneh ,An efficient and simple ultrasound-assisted approach to synthesis of Baclofen. Main Group Chemistry, 2018. 17: p. 161-164.