

تهیه کمپلکس ایندیوم پنتتات ($^{111}\text{In} - \text{DTPA}$)

دکتر ثریا شاه‌حسینی - دکتر غلامرضا فرشیدفر - دکتر رضا نجفی

دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و بخش رادیوایزوتوپ‌ها
مرکز تحقیقات هسته‌ای سازمان انرژی اتمی ایران

چکیده

تا به حال، ترکیب آلی فلزی (organometalic) از ایندیوم که به طور طبیعی در بدن انسان موجود باشد، شناخته نشده است. اما خصوصیات فروپاشی رادیوایزوتوپ ^{111}In و خواص شیمیایی مناسب یون فلزی ایندیوم توجه بسیاری از محققین را جهت تهیه ترکیبات نشاندار با ^{111}In در امور پزشکی به خود جلب کرده است و ترکیبات زیادی جهت شناسایی حالات غیرطبیعی در بدن تهیه شده‌اند. از آن جمله می‌توان کمپلکس $^{111}\text{In} - \text{DTPA}$ که عامل انتخابی در مطالعات جریان مایع مغزی - نخاعی (Cisternography) می‌باشد، نام برد.

در تحقیق حاضر، کمپلکس $^{111}\text{In} - \text{DTPA}$ از روش‌های مختلف تهیه شده، پایداری آن در طی نگهداری و در حضور پلاسماهای انسانی تعیین شده است.

واژه‌های کلیدی

دی‌اتیلن‌تری‌آمین پنتااستیک اسید (DTPA)
ایندیوم- ^{111}In (مایع مغزی - نخاعی (CSF)،
رادیوایزوتوپ (Radioactive)، رادیونوکلید
(Radionuclide)، صیدالکترونی (Electron Capture)،
Instant Thin Layer Chromatography Silica
Gel=ITLC-SG

مقدمه

ایندیوم، 20 رادیونوکلید دارد که وزن اتمی آنها از 106 تا 204 متفاوت می‌باشد. در بین رادیونوکلیدهای فوق، پرمصرف‌ترین آنها ^{111}In است که چندین دهه می‌باشد، توسط فیزیکدانان هسته‌ای شناخته شده است، اما عملاً از سال ۱۹۶۹ در پزشکی هسته‌ای وارد

شده است. ایندیوم عنصر سه ظرفیتی است و به گروه IIIA جدول تناوبی تعلق دارد. ^{111}In از رادیونوکلیدهایی است که در شتاب‌دهنده‌ها با استفاده از بمباران نقره یا کادمیوم توسط ذرات باردار حاصل می‌شود و با پدیده صید الکترونی (۱۰۰٪) با نیمه عمر $67/2$ ساعت فروپاشیده شده، تابش بتا ندارد و دو فوتون گاما با انرژی‌های 172Kev (85%) و 247Kev (94%) که در تصویربرداری به کار می‌روند، نشر می‌کند و به کادمیوم پایدار تبدیل می‌شود (۱۰).

انتخاب یک ترکیب آلی در تهیه رادیو داروهای ^{111}In ، به خصوصیات بیوشیمیایی ترکیب بستگی دارد. لیگاند چند دندانه DTPA، کمپلکس محلول در آب قوی به نسبت ۱:۱ با ایندیوم در $\text{pH}=6-7$ تشکیل می‌دهد. عدد کوردیناسیون ایندیوم سه ظرفیتی در کمپلکس

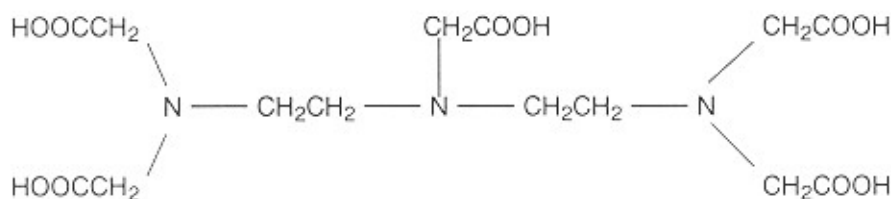
تهیه کمپلکس ایندیوم بنتات ($^{111}\text{In} - \text{DTPA}$)

عین حال، $^{111}\text{In} - \text{DTPA}$ برای تعیین میزان تصفیه گلوبولین (GFR) هم به کار می‌رود، زیرا وقتی به صورت وریدی به کار رود، رادیونوکلید همراه با DTPA به سرعت از جریان خون پاک می‌شود. تقریباً ۶۵٪ اکتیویته تزریق شده در مدت ۲۴ ساعت و ۸۵٪ در مدت ۷۲ ساعت از طریق ادرار دفع می‌شود. کمپلکس در چربی‌ها و لیپیدها نامحلول می‌باشد^(۳۲).

در مطالعه حاضر، کمپلکس $^{111}\text{In} - \text{DTPA}$ با به کارگیری روش‌های مختلف تهیه شده و پایداری آن در طی مدت نگهداری و در حضور پلاسما انسانی تعیین شده است. سپس برای تعیین خلوص رادیوشیمیایی و میزان بازدهی کمپلکس بوجود آمده، از روش کروماتوگرافی استفاده شد. در ضمن، مطالعه فوق برای اولین بار در ایران انجام شده است.

فوق ۸ است. لیگاند ۸ دندانه DTPA از طریق سه اتم نیتروژن آمین نوع سوم و پنج اتم اکسیژن کریوکسیل با ایندیوم کمپلکس تشکیل می‌دهد^(۳۲).

کمپلکس $^{111}\text{In} - \text{DTPA}$ ، عامل انتخابی در مطالعات جریان مایع مغزی - نخاعی (Cisternography) می‌باشد. در مطالعات فوق، $^{111}\text{In} - \text{DTPA}$ معمولاً اینتراتکال (Intrathecal) تزریق می‌شود و دینامیک CSF با تصویربرداری در زمان‌های ۰.۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت و در صورت کندی جریان CSF، در زمان‌های ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از تزریق مشخص می‌شود. کمپلکس از CSF جذب شده، از طریق کلیه‌ها دفع می‌شود. بنابراین اکتیویته خون کاهش می‌یابد و جذب زمینه کم می‌شود. $^{111}\text{In} - \text{DTPA}$ با سایر رادیوداروها در سیستم‌نوگرافی مقایسه شده است و مشخص شده که بهترین می‌باشد. در



DTPA

مواد و روش‌ها

DTPA حلقوی انیدرید و ملح کلسیم تری سدیم $(\text{DTPA} \cdot \text{CaNa}_3 \text{ aq})$ از فلوکا خریداری شدند. صفحات ITLC-SG به ابعاد ۲۰×۲۰cm و شماره T-6770 از سیگما خریداری شدند.

^{111}In به صورت ایندیوم کلرید $^{111}\text{InCl}_3$ با فعالیت ویژه ۱۵ mCi/ml در محلول HCl ۰/۰۱ نرمال در

بخش سیکلوترون مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای سازمان انرژی اتمی ایران تولید شده و مورد مصرف قرار گرفته است. نمونه‌های رادیواکتیو توسط شمارنده گاما از نوع سدیم یدید (NaI) اندازه‌گیری شده‌اند.

روش اول: ۲ میلی‌گرم DTPA حلقوی انیدرید را در

آزمایش‌ها ۶ نوع حلال و ۴ نوع کاغذ مخصوص کروماتوگرافی به شرح زیر مورد مصرف قرار گرفتند.

کاغذ کروماتوگرافی	حلال
Kieselgel:RP-18	آب - متانول (۲:۱)
واتمن شماره ۳	متانول (۸۵٪)
ITLC-SG	بافر سیترات ۰/۱ مولار
واتمن شماره ۱	نرمال سالین
واتمن شماره ۱	متانول - استون (۱:۱)
	آمونیم استات ۱۰٪ - متانول (۱:۱)

ITLC-SG کروماتوگرام‌ها به فاصله ۱ cm از مبدأ بریده شده، اکتیویته هر کدام توسط شمارنده گاما اندازه گرفته شد و به این ترتیب توزیع رادیواکتیویته بر روی کروماتوگرام‌ها حاصل شد. در هر سه روش، بعد از گذشت زمان انکوباسیون، مقدار درصد کمپلکس $^{111}\text{In-DTPA}$ به عنوان خلوص رادیوشیمیایی، توسط آزمایش‌های رادیوشیمیایی از طریق کروماتوگرافی محاسبه شد.

نتایج

نتایج حاصل نشان دادند که بهترین سیستم کروماتوگرافی، ITLC-SG در محلول آمونیم استات ۱۰٪ متانول است. در این سیستم، ایندیوم کلرید و ایندیوم استات در مبدأ می‌مانند ($R_f=0$)، در حالی که کمپلکس نزدیک به جبهه حلال به بالا حرکت می‌کند ($R_f=0.7$). مقدار درصد کمپلکس در هر مورد از روش زیر محاسبه شد:

$$\text{مقدار درصد کمپلکس} = \frac{\text{اکتیویته در نزدیکی جبهه حلال}}{\text{اکتیویته مبدأ} + \text{اکتیویته در نزدیکی جبهه حلال}} \times 100\%$$

محلول HCl ۵/۰٪ نرمال به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت اتاق هیدرولیز کرده و سپس مقدار $^{111}\text{InCl}_3$ 1mCi اضافه کرده، پس از مخلوط کردن به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت اتاق انکوبه می‌شود. سپس محلول کلسیم کلرید (۲mg/۰٪) به مخلوط واکنش اضافه شده، pH محلول نهایی توسط بافر فسفات به ۷ رسانده می‌شود^(۴).

روش دوم: ۲ میلی‌گرم DTPA حلقوی انیدرید را در محلول 50mM NaHCO_3 (pH=۷/۵) به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت اتاق هیدرولیز کرده، سپس مقدار 1 mCi ایندیوم استات اضافه می‌کنیم و پس از مخلوط کردن به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت اتاق انکوبه می‌شود. ایندیوم استات با اضافه کردن بافر استات ۱ مولار با pH=۶ بر روی ایندیوم کلرید حاصل می‌شود^(۵).

روش سوم: ۲ میلی‌گرم ملح DTPA CaNa_3 را در آب حل کرده، بر روی آن 1 mCi ایندیوم استات اضافه می‌کنیم و پس از مخلوط کردن به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت اتاق انکوبه می‌شود.

مطالعات پایداری: پایداری کمپلکس‌های حاصل در *in vitro* در زمان‌های مختلف پس از نشاندار کردن با استفاده از سیستم کروماتوگرافی بررسی شد. همین‌طور کمپلکس‌ها با پلاسما ی انسانی به مدت ۲ روز در حرارت ۲۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده، انتقال ایندیوم از DTPA به ترانسفرین در زمان‌های مختلف با استفاده از کروماتوگرافی بررسی شد.

جهت تعیین خلوص رادیوشیمیایی و میزان بازدهی کمپلکس، از روش کروماتوگرافی استفاده گشت. در این

تهیه کمپلکس ایندیوم پنتتات ($^{111}\text{In} - \text{DTPA}$)

به علت مقدار پرتودهی زیاد، $^{111}\text{InCl}_3$ مستقیماً به مریض تزریق نمی‌شود، بلکه با لیگاندها کمپلکس داده، مستقیماً یا جهت نشاندار کردن سلول‌های خونی و آنتی‌بادی‌ها به کار می‌رود. DTPA، کمپلکس محلول در آب با ^{111}In تشکیل می‌دهد که ثابت پایداری آن $28/4$ است. اگر کمپلکس در pH پایین تهیه شده و سپس به pH=7 رسانده شود، رسوب نمی‌کند، اما اگر $^{111}\text{InCl}_3$ در pH بالا به محلول DTPA اضافه شود، به صورت $^{111}\text{In}(\text{OH})_3$ رسوب می‌کند^(۴).

در مطالعه حاضر، روش‌های تهیه کمپلکس تغییر داده شده‌اند و در نهایت کمپلکس‌هایی با همان خصوصیات و ویژگی‌های مورد نظر در فارکوپه‌ها تهیه شدند. برای تهیه کمپلکس، از انیدرید حلقوی DTPA استفاده کرده‌ایم و برحسب اینکه انیدرید در چه محیطی هیدرولیز شود (اسیدی یا بازی)، ایندیوم به شکل کلرید یا استات به محیط اضافه می‌شود. در روش اول DTPA انیدرید در محیط اسیدی هیدرولیز می‌شود و ایندیوم به شکل کلرید به محیط اضافه شده است. بعد از تشکیل کمپلکس، pH به 7 رسانده می‌شود تا پایداری کمپلکس حفظ گردد. در روش دوم، DTPA انیدرید در محیط بازی هیدرولیز می‌شود، بنابراین برای جلوگیری از تشکیل رسوب $^{111}\text{In}(\text{OH})_3$ ، ایندیوم استات به محیط اضافه شده است. در روش سوم، ملح کلسیم تری‌سدیم DTPA در آب حل می‌شود و با توجه به بازی بودن محیط، ایندیوم استات به محیط اضافه شده است. روش سوم نسبت به دو روش دیگر برتری دارد، زیرا از مراحل کمتری در تهیه کمپلکس برخوردار است.

بر طبق فارماکوپه بریتانیا (BP) رادیو اکتیویته کمپلکس که نزدیک به جبهه حلال حرکت می‌کند نباید کمتر از ۹۵٪ رادیو اکتیویته کل باشد.

میزان بازدهی کمپلکس در روش اول و دوم ۹۷٪ و در روش سوم ۹۸٪ بود. مطالعات پایداری هم با استفاده از سیستم کروماتوگرافی ITLC-SG در آمونیوم استات ۱۰٪ متانول صورت گرفت. کروماتوگرافی‌های انجام شده بر روی کمپلکس‌های تهیه شده در زمان‌های ۱، ۲، و ۳ روز بعد از تشکیل کمپلکس نشان دادند که محلول $^{111}\text{In}-\text{DTPA}$ در شرایط دمای آزمایشگاه پایدار است. همین‌طور کروماتوگرافی‌های انجام شده بر روی مخلوط کمپلکس $^{111}\text{In}-\text{DTPA}$ و پلاسماي انسانی در زمان‌های ۳۰ دقیقه و ۱، ۲، و ۳ ساعت و ۱ و ۲ روز بعد از انکوباسیون نشان دادند که ایندیوم از DTPA به ترانسفرین منتقل نمی‌شود (No-Transchelation).

بحث

ایندیوم به صورت یون سه ظرفیتی (In^{+3}) در pH کم و به صورت هیدروکسید $[\text{In}(\text{OH})_3]$ در pH بالا در محلول موجود بوده، با عوامل کمپلکس‌کننده ضعیف مثل سیترات و استات، کمپلکس‌های ناپایدار تشکیل می‌دهند و با عوامل کمپلکس‌کننده قوی مثل اکسین (Oxine)، تروپولون (Tropolon)، EDTA، و DTPA، کمپلکس‌های پایدار قوی تشکیل می‌دهد. ^{111}In در سیکلوترون از بمباران ^{111}Cd یا ^{109}Ag توسط ذرات باردار حاصل می‌شود. بعد از بمباران، هدف (Cd یا Ag) در HCl حل می‌شود و ^{111}In به صورت $^{111}\text{InCl}_3$ از رزین تعویض آنیونی یا استخراج با حلال جدا می‌شود.

منابع

- 1 - Thakur M.L. Radiotracers for Medical Application. 1983 Vol 1. Chapter 5. 199-217
- 2 - Thakur M.L. Gallium and Indium-111 Radiopharmaceuticals. Int. J. Appl. Radiat. Isotopes. 1977; 28: 183-201
- 3 - Maecke H.R, Riesen A, Ritter W. The Molecular Structure of Indium-DTPA. J. Nucl. Med. 1989; 30: 1235-1239
- 4 - Owunwanne A, Patel M, Sadek S. The Handbook of Radiopharmaceuticals. Chapman & Hallmedical. 1995: 122 - 123
- 5 - Reilly R, Lee N, Houle S, Law J, Marks A. In Vitro Stability of EDTA and DTPA Immunoconjugates of Monoclonal Antibody 2G3 Labeled with Indium-111. Appl. Radio. Isot. 1992; 43(8): 961-967