مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره چهارم، شماره پانزدهم، تابستان ۱۳۹۳

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

# سنتز و مقایسه دو آنالوگ ایرانی پپتید آزاد کننده گاسترین جهت تصویربرداری از تومورهای سرطانی سینه و پروستات

سید پژمان شیرمردی[۱]، مصطفی عرفانی[۲*]

۱- پژوهشکده چرخه سوخت هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، تهران- ایران
۲- پژوهشکده علوم هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، تهران- ایران

## چکیده

**سابقه و هدف:** بومبزین پپتیدی است که تمایل بالایی به گیرنده های پپتید آزاد کننده گاسترین (بومبزین) دارد. تومورهایی همچون تومورهای پروستات، شش، پستان و کولون تعداد زیادی گیرنده پپتید آزاد کننده گاسترین را بیان می کنند. در این مطالعه، تولید و ارزیابی دو آنالوگ جدید نشاندار شده پپتید آزاد کننده گاسترین با تکنسیوم-۹۹m و گالیوم-۶۷ انجام پذیرفته است.

**مواد و روش ها:** ترکیب‌های DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$، HYNIC-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ با استفاده از استراتژی Fmoc استاندارد تهیه گردید. تحلیل رادیوشیمیایی ترکیبهای نشاندار شده توسط روش HPLC انجام شد. پایداری پپتیدهای نشاندار در حضور سرم انسانی (دمای ۳۷ درجه سانتیگراد) انجام و بررسی درون روی هر دو ترکیب نشاندار بر روی رده سلولی PC-۳ انجام پذیرفت.

**یافته ها:** نتایج پایداری نشان داد که هر دو ترکیب دارای پایداری خوبی در سرم انسانی بوده و نتایج درون روی نشان داد که ترکیب $^{67}$Ga-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ دارای درون روی بهتری نسبت به $^{99m}$Tc-HYNIC-GABA-Bombesin (۷-۱۴) NH۲ می باشد. بررسی توزیع بیولوژیکی نیز نشان داد که ترکیب $^{67}$Ga-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ دارای نسبت تومور به کلیه و تومور به پانکراس بهتری نسبت به ترکیب دیگر است. همچنین سرعت دفع $^{67}$Ga-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ از خون بهتر از ترکیب دیگر است.

**نتیجه گیری:** با مقایسه شرایط دو ترکیب می توان بیان نمود که ترکیب $^{67}$Ga-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ دارای شرایط بهتری نسبت به $^{99m}$Tc-HYNIC-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ می باشد.

**کلمات کلیدی:** گالیوم-۶۷، تکنیسوم-m۹۹، پپتید، نشاندارسازی

## مقدمه

ورود بیوملکول ها (آنتی بادیها و پپتیدها) به حوزه پزشکی (تصویربرداری و درمان) انقلاب بزرگی در این حوزه ایجاد کرد. روش های متعددی برای تهیه پپتیدها وجود دارد که از جمله می توان استخراج طبیعی و سنتز را نام برد. در روش سنتز دو روش مهم فاز جامد و فاز محلول در دنیا مرسوم است که نوع فاز جامد برای کارهای با مقیاس کوچک مورد استفاده قرار

آدرس نویسنده مسئول : پژوهشکده چرخه سوخت هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته
Email :p_shirmardi@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۹۲/۳/۱۶
تاریخ پذیرش: ۹۲/۴/۱۰

Archive of SID
www.SID.ir

می گیرد و نوع فاز محلول برای مقیاسهای صنعتی است. روش سنتز فاز محلول روش پیچیده، وقتگیر و به مهارت زیادی نیاز دارد. علاوه بر این، فرایند خالصسازی طولانی و پیچیده شامل کریستالیزاسیون، کروماتوگرافی، تقطیر و ... دارد. روش سنتز فاز جامد سریع و آسان بوده و دارای مزیتهای فراوانی نسبت به روش فاز محلول میباشد که شامل کم بودن مراحل خالصسازی و حداقل شرایط لازم برای واکنش مطلوب است. روش مناسب برای سنتز پپتیدهای کوچک و متوسط بوده و راندمان آن بالاست و طی سنتز می توان عامل شلات کننده را به توالی پپتید متصل کرد. سنتز پپتید در فاز جامد بر اساس افزایش متوالی آلفا آمینو اسیدهای دارای زنجیره جانبی محافظت شده به یک پلیمر غیر قابل حل (رزین) میباشد. استفاده از پپتیدها نسبت به آنتی بادیهای در حوزه تشخیص تومورهای سرطانی جایگاه ویژه ای پیدا نموده است. به طور کلی پپتیدها در فرایندهای بیولوژی نسبت به دیگر مولکولها از اهمیت بیشتری برخوردار هستند، تحریک، مهار یا تنظیم بسیاری از فعالیت های بیولوژی از طریق گیرنده مربوطه آنها انجام میپذیرد. یک پپتید قبل از اینکه در پزشکی هستهای استفاده شود باید دارای خصوصیات زیر باشد:

۱- نشاندارسازی سریع و موثر، رادیواکتیویته ویژه بالا.

۲- پایداری زیستی بالا.

۳- حفظ تمایل به گیرنده و حفظ فعالیت بیولوژی در نشاندارسازی.

۴- خواص فارماکوکینتیک مناسب.

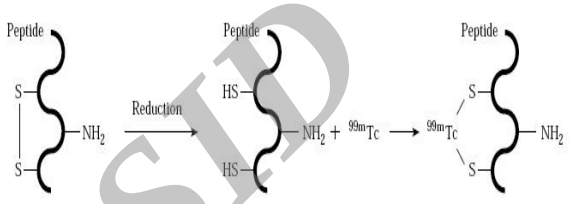
برای گسترش حوزه سینتیگرافی رادیوپپتیدی، طیف وسیعی از پپتیدها برای انواع سلول های توموری استفاده می شود. تعداد زیادی از سرطان های بدخیم انسانی، گیرنده های پپتیدی مختلفی را بر روی سطح سلولی خود بیان می کنند. این گیرنده ها اهداف مهم و مفیدی برای تصویر برداری مولکولی و درمان هدفمند تومورها می باشند که از جمله این گیرنده ها می توان از گیرنده های سوماتواستاتین، نوروتانسین و بومبزین نام برد که در سال های اخیر مطالعات فراوانی در این حوزه صورت پذیرفته است. از پپتید های مشابه بومبزین در پستانداران می توان Neu-romedin B (NMB) و Gastrin Releasing Peptide (GRP) را نام برد (۷و۱۸). که این دو پپتید دارای گ‌یرنده های خاصی در بدن می باشند و در تومورهای سرطانی همچون سرطان های پستان، پروستات (۱۲)، شش(۵و۹) و کولون(۱۳) ب‌یان این گیرنده ها در سطح سلولیشان افزایش می یابد. در مطالعات اتورادیوگرافی مشاهده شد که چگالی گ‌یرنده های پپتید آزاد کننده گاسترین در کارسینومای هجومی پروستات(invasive prostate carcinomas) و آس‌یب های پروستات اینترا اپیتلیال تکثیرشونده(proliferative intraepithelial prostate lesions) زیاد بوده در حالیکه میزان این گیرنده ها در سطح سلول های سالم و غیرتوموری پروستات بسیار ناچیز می باشد (۱۹). تا به حال سنت‌زهای متعددی از آنالوگ های بومبزین یا پپتید آزاد کننده گاسترین انجام شده است که هر کدام به نحوی در پی افزایش میزان پایداری ترکیب و اتصال به گیرنده مورد نظر بوده اند (۱۷و۱۶و۱۴و۱۱و۸و۶و۱-۴). ترکیبهای متعددی از این پپتید با رادیونوکلیدهای گسیلنده گاما جهت تصویربرداری نشاندار گردید که از آن جمله می توان آنالوگ های نشاندار با تکنیسوم-m۹۹، ایندیوم-۱۱۱ و گالیوم-۶۷ توسط SPECT و آنالوگ های نشاندار با مس-۶۴ و گالیوم-۶۸ توسط PET را نام برد (۱۰و۶و۲). برای اهداف درمانی با استفاده از این پپتید، آنالوگ های متعددی توسط ایتریوم-۹۰ و لوتشیوم-۱۷۷ نشاندار گردید و بررسی های درمانی نشان از توانمندی خوب این دارو برای درمان تومورهای سرطانی سینه و پروستات دارد (۱۵). یک روش نشاندارسازی ایدهآل، روشی است که خواص اتصال به گیرنده و فعالیت بیولوژیکی ملکولهای بیولوژی بدون تغییر باقی بماند و پپتید یا آنتی بادی نشاندار شده در طی تصویر برداری فعال باشد. تکنیکهایی برای نشاندار سازی ساده و موثر پپتیدها با رادیونوکلیدهای مختلف بر پایه نشاندارسازی پروتئینها و آنتی بادیها ایجاد شدهاند. اثرات نشاندارسازی روی خواص بیولوژیکی معمولا"روی پپتیدهای کوچک نسبت به پروتئینها و آنتی بادیها شدیدتر است. نشاندارسازی در ناحیه ویژهای از پپتیدهای کوچک جهت جلوگیری از کاهش فعالیت بیولوژی و حفظ تمایل اتصال مناسب است. برای نشاندارسازی پپتیدها دو روش مستقیم و غیر مستقیم وجود دارد. در روش نشاندار سازی مستقیم رادیونوکلید بطور مستقیم به بیوملکول



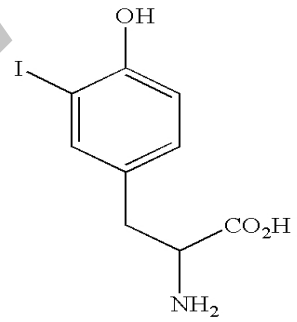
Archive of SID

www.SID.ir

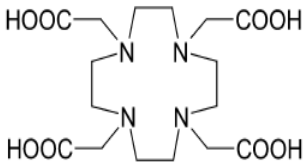
متصل میشود. بعنوان مثال در روش نشاندارسازی مستقیم با mTc۹۹ با احیا پیوندهای دی‌سولفیدی در آنتی بادی توسط احیا کنندههایی مانند SnCl۲ و NaBH۴صورت میپذیرد. این روش دارای پایداری کمتری است و کمتر مورد توجه قرار میگیرد. در روش مستقیم از رادیونوکلیدهای ید و رنیوم نیز استفاده میشود که در روش یددار کردن با نشاندن ید بر روی حلقه فنل اسید آمینه تیروزین میتوان پپتید را نشاندار نمود. در شکل (۱) فرایند نشاندارسازی با mTc۹۹ و ید رادیواکتیو به روش مستقیم نشان داده شده است.




شکل ۱) فرایند نشاندار سازی با $^{99}Tc^{m}$و ید رادیواکتیو به روش مستقیم.




در روش نشاندار سازی غیر مستقیم، از عوامل شلات کننده دو سره مانند DOTA، DTPA و HYNIC بعنوان یک عامل واسطه بین رادیوایزوتوپ و پپتید استفاده میشود. در شکل (۲) فرم DOTA نشان داده شده است.




شکل ۲) فرم شیمیایی DOTA

در مطالعه حاضر، ابتدا دو آنالوگ از پپتید آزاد کننده گاسترین طراحی و سنتز شده و سپس با استفاده از شلاتورهای مختلف بوسیله رادیونوکلیدهای ۶۷Gaو ۹۹mTc نشاندار گردید. در ادامه به مقایسه پارامترهای متعددی از این ترکیبهای نشاندار شده پرداخته شد. ترکی‌بهای DO-HYNIC-GA-TA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$، BA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ نمونه های سنتز شده داخلی می باشد که با رادیونوکلیدهای $^{67}Ga$, $^{99m}Tc$ نشاندار شد. در این مقایسه، پایداری ترکیبهای نشاندار در سرم انسانی، درون روی ترکیبها و بررسی توزیع بیولوژیکی آن در بدن موش بررسی گردیده است.

## مواد و روش ها

مواد مورد استفاده از شرکتهای مختلف تهیه شدند. رزین Rink Amide MBHA (۴-Methylbenzhydrylamine) و تمام اسیدهای آمینه محافظت شده Fmoc-protected amino acids ساخت شرکت (NovaBiochem (Laufelfingen, Switzerland می باشد. دیگر مواد و واکنشگرها از شرکت (Fluka (Germany تهیه و بدون هیچ خالص سازی استفاده شد. سنتز پپتید مورد نظر توسط روش فاز جامد Fmoc استاندارد بر روی رزین Rink Amide MBHA با ظرفیت ۶۹/۰ mmol/gانجام شد. اتصال هر اس‌ید آمینه با افزودن ۳ مول از Fmoc–Amino acid، ۳ مول از (N-hydroxybenzotriazole (HOBt) ، ۳ مول از Diiso-propylcarbodiimide (DIC) و ۵ مول از Diisopropylamine (DIPEA)) در Dimethylformamide (DMF) انجام شده است. میزان اتصال اسید آمینه ها توسط روش کایسرKaiser و جداسازی گروه های محافظ با افزودن ۲۰درصد پی پ‌یریدین در DMF انجام پذیرفت. نتایج کار محققین نشان داد زمانی که شلات کننده به طور مستقیم به پپتید وصل می شود، منجر به کاهش قابل توجهی در تمایل به اتصال گیرنده GRP خواهد شد. بنابراین قرار دادن فضا دهنده بین پپتید و شلات کننده ضروری است. لذا در از فضادهنده گابا (Fmoc-GABA) ب‌ین پپتید و شلاتور استفاده شد. اتصال DOTA به پپتید در حضور ۱/۲ مول $DOTA-(tBu)_4$، ۲/۵ مول (۲-)۷-Aza-۱H-benzotriazole-۱-yl)-۱, ۱, ۳, ۳-tetramethyluronium hexafluorophos-phate) (HATU)، ۵ مول (DIPEA (diisopropyletylamine در DMF انجام پذیرفت. اتصال HYNIC-Boc به پپتید نیز همانند ترکیب قبل در حضور ۱/۲ مول $DOTA-(tBu)_4$، ۲/۵



Archive of SID
www.SID.ir

مول (-۲)-۱, ۱, ۳, ۳-te-۷-Aza-۱H-benzotriazole-۱-yl) (HATU (tramethyluronium hexafluorophosphate)، ۵ مول (DIPEA diisopropyletylamine) در DMF انجام پذیرفت. در پایان بطور جداگانه هرکدام از دو ترکیب از رزین جدا شده و گروههای محافظ آن حذف گردید (۱و۲).

برای نشاندارسازی ترکیب HYNIC-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ ۲۰ میکروگرم از این پپتید در آب حل شده و به یک لوله حاوی ۱۵ میلی گرم تریسین و ۵ میلی گرم EDDA در ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر افزوده می شود. سپس به این محلول ۴۰ میکروگرم $SnCl_2$ (۲۰ µL of ۲ mg/mL $SnCl_2$, ۰.۱ M HCl in nitrogen-purged $2H_2O$) افزوده شد. در ادامه ۳۷۰ تا ۱۴۸۰مگا بکرل $^{99m}TcO_4^-$ در ۰/۵ میلی لیتر سالین به این محلول اضافه شده و در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه می شود. پس از ۱۰ دقیقه حرارت دهی، مخلوط در دمای محیط خنک شده و برای بررسی میزان نشاندارسازی، به دستگاه کروماتوگرافی با کارایی بالا تزریق گردید.

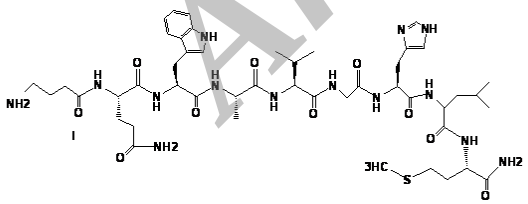
برای نشاندارسازی ترکیب DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ ۲۰ میکروگرم از این پپتید را در یک لوله حاوی بافر استات آمونیوم حل شده، در ادامه ۳۷ مگا بکرل $^{67}Ga$ به این محلول افزوده و در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. در پایان نیز همانند ترکیب قبل، مخلوط در دمای محیط خنک شده و برای بررسی میزان نشاندارسازی، به دستگاه کروماتوگرافی با کارایی بالا تزریق گردید (۴و۶).

بررسی پایداری هرکدام از ترکیبها، از دستگاه کروماتوگرافی با کارایی بالا HPLC استفاده شد. برای بررسی پایداری در سرم، ترکیبهای مورد نظر را به ۱میلی لیتر از سرم تازه تهیه شده انسانی، افزوده و مخلوط در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگه داشته شد. در زمان های مختلف ۱۰۰ میکرولیتر از آن را برداشته و به ۱۰۰ میکرولیتر الکل افزوده و سپس نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در یک سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور بر دقیقه برای ته نشین کردن پروتئین های سرم قرار داده شد. در ادامه ماده شناور بر روی سطح (Supernatant) را برداشته و اکتیویته آن با اکتیویته فاز ته نشین شده (Sediment) برای محاسبه درصد رادیوپپتیدهای متصل به پروتئین های سرم مقایسه گردید.

بررسی توزیع بیولوژیکی در واقع تعیین میزان دفع رادیوپپتید از خون، میزان و مسیر دفع رادیوپپتید، پایداری درون تنی رادیوپپتید، میزان جذب و نگهداری در بافت های با گیرنده مثبت می باشد، شمارش میزان اکتیویته در بافتهای مختلف توسط دستگاه شمارنده چاهی گاما مدل ORTEC Model ۴۰۰۱ M انجام پذیرفت. پپتیدها در خون متابولیزه شده و متابولیت های نشاندار شده ممکن است سریع از خون دفع نشوند و همچنین اتصال به پروتئین از عواملی می باشد که باعث بالا رفتن پس زمینه خونی می شوند. اتصال به پروتئین سبب می شود تا زمان استخراج پپتید از خون از چند دقیقه به چندین ساعت افزایش یابد. علاوه بر خون، بررسی بافت های مهم دیگری همچون کلیه و کبد که بافت های دفع پپتید هستند مهم و اساسی است.

## یافته ها

سنتز پپتید بر اساس استراتژی Fmoc با موفقیت به انجام رسید و بازدهی سنتز بر روی رزین MBHA بترتیب در حدود ۵۵ و ۴۵ درصد برای ترکیبهای DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) NH۲، HYNIC-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ می باشد. صحت ساختار سنتز شده بوسط دستگاه HPLC و NMR تایید گردید و خلوص نهایی ترکیب سنتز شده برای هر دو ترکیب بالای ۹۷ درصد می باشد. ساختار پایه پپتید سنتز شده در شکل (۳) آمده است.



شکل ۳) ساختار پایه پپتید آزاد کننده گاسترین سنتز شده

### ۳-۱ نشاندار سازی

بهره نشاندارسازی برای ترکیب نشاندار $^{99m}Tc$-HYNIC-GA-BA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ بیشتر از ۹۸ درصد و برای $^{67}Ga$-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ بیشتر از ۹۱ درصد بدست آمد.



Archive of SID

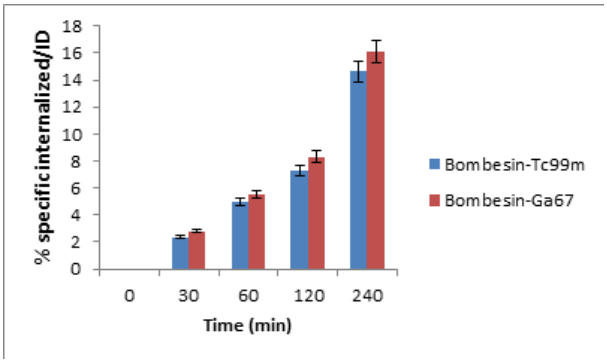
www.SID.ir

## ۳-۲ بررسی پایداری

نتایج بررسی پایداری برای ترکیب $^{99m}$Tc-HYNIC-GA-BA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ نشان داد که ترکیب پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در سرم انسانی، دارای پایداری بیشتر از ۹۰ درصد بوده و هیچگونه اثر متابولیکی جدی مشاهده نشد. و برای $^{67}$Ga-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ این پایداری در ۱۶ ساعت به دست آمد.

## ۳-۳ بررسی درون روی (Internalization)

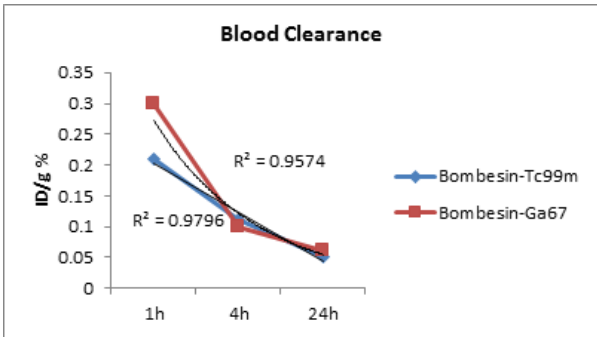
نتایج درون روی برای هر دو ترکیب نشان داد که گیرنده های سطح سلولی را شناسایی و بخوبی وارد سلول شده اند ولی میزان درون روی برای ترکیب نشاندار با گالیوم-۶۷ پس از ۴ ساعت نشان از بهتر بودن این ترکیب نسبت به ترکیب نشاندار با تکنسیوم می باشد. برای ترکیب $^{99m}$Tc-HYNIC-GA-BA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ پس از ۴ ساعت میزان درون روی ٪ ۴۱/۰±۶۳/۱۴ و برای $^{67}$Ga-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ برابر ٪ ۰/۷۱±۱۳/۱۶ می باشد. میزان درون روی در زمانهای های مختلف برای دو ترکیب نشاندار در شکل (۴) نشان داده شده است.




شکل ۴) میزان درون روی در زمانهای ۳۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ دقیقه برای دو ترکیب نشاندار با گالیوم-۶۷ و تکنسیوم-۹۹m

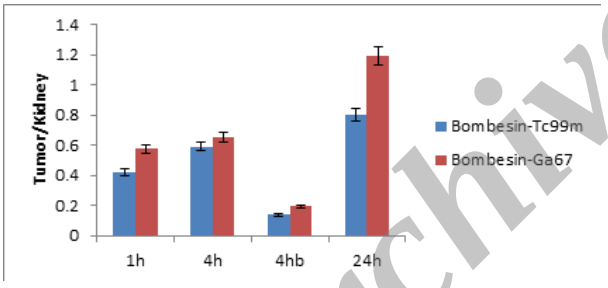
## ۳-۴ توزیع بیولوژیکی

نتایج توزیع بیولوژیکی در موش نشان می دهد که ترکیبهای مورد نظر در بافت های با گیرنده مثبت بومبزین مانند پانکراس و تومور تمرکز قابل توجهی داشته و سرعت دفع آنها از خون قابل قبول است. ولی شیب سرعت دفع ترکیب $^{67}$Ga-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ بیشتر از ترکیب دیگر می باشد (شکل۵).

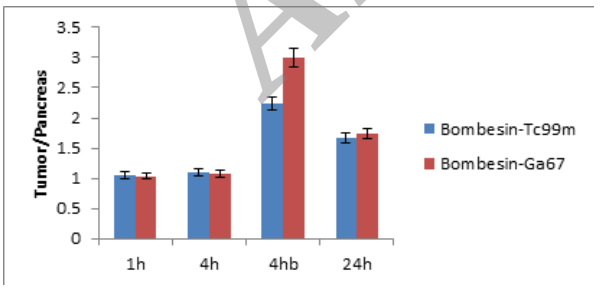



شکل ۵) توزیع بیولوژیکی در اندامهای مختلف موش یک ساعت پس از تزریق برای دو ترکیب نشاندار با گالیوم-۶۷ و تکنسیوم-۹۹m

نتایج همچنین نشان داد که نسبت دوز تومور به کلیه و تومور به پانکراس در ترکیب $^{67}$Ga-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ بیشتر از ترکیب دیگر است. لذا این شاخصه مهم در مورد ترکیب $^{67}$Ga-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ آن را بعنوان یک عامل تصویربرداری بهتر نسبت به نوع دیگر معرفی می نماید (شکل۶و ۷).




شکل ۶) نسبت دوز تومور به کلیه برای دو ترکیب نشاندار با گالیوم-۶۷ و تکنسیوم-۹۹m- در زمانهای ۴،۱ و ۲۴ ساعت پس از تزریق




شکل ۷) نسبت دوز تومور به پانکراس برای دو ترکیب نشاندار با گالیوم-۶۷ و تکنسیوم-۹۹m- در زمانهای ۴،۱ و ۲۴ ساعت پس از تزریق

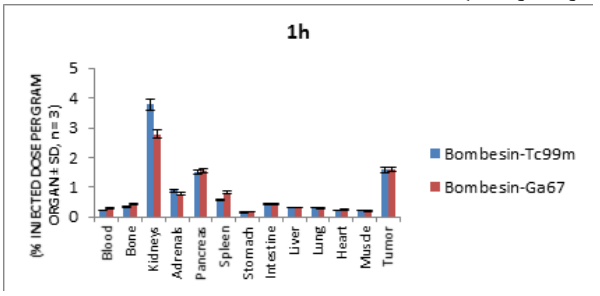
در ضمن سرعت دفع آن از اندام های با گیرنده منفی (بجز کلیه ها) قابل قبول می باشد. ترکیب نشاندار میزان جذب مناسبی

Archive of SID

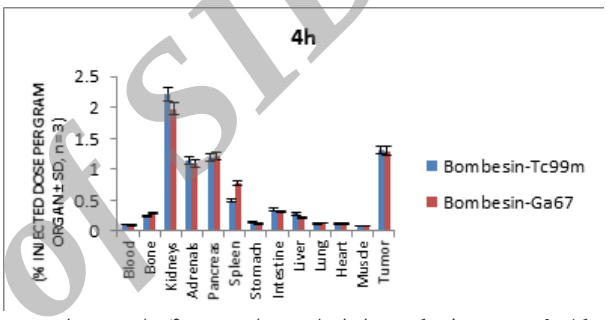


www.SID.ir

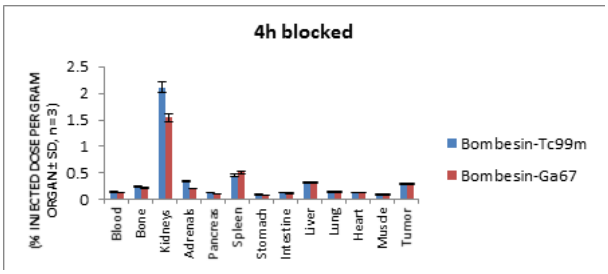
را در تومور و پانکراس دارد. نتایج جدول توزیع بیولوژیکی در ساعت های ۱، ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق به همراه نتایج مربوط به توزیع بیولوژیکی ۴ ساعت بلاک (ترکیب حاوی پپتید سرد) در شکلهای (۸-۱۱) آمده است.



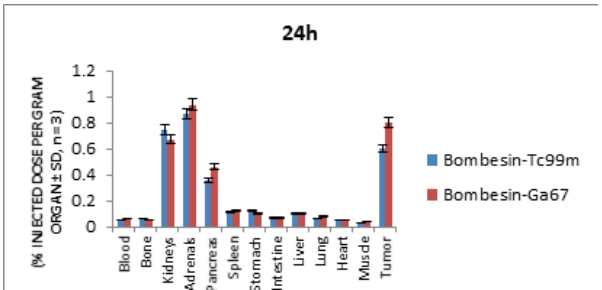

شکل ۸) توزیع بیولوژیکی در اندامهای مختلف موش ۱ ساعت پس از تزریق برای دو ترکیب نشاندار با گالیوم-۶۷ و تکنسیوم۹۹m-




شکل ۹) توزیع بیولوژیکی در اندامهای مختلف موش ۴ ساعت پس از تزریق برای دو ترکیب نشاندار با گالیوم-۶۷ و تکنسیوم۹۹m-




شکل ۱۰) توزیع بیولوژیکی در اندامهای مختلف موش ۴ ساعت پس از تزریق برای دو ترکیب نشاندار با گالیوم-۶۷ و تکنسیوم۹۹m- برای بررسی اثر بلاک (پپتید سرد)




شکل ۱۱) توزیع بیولوژیکی در اندامهای مختلف موش ۲۴ ساعت پس از تزریق برای دو ترکیب نشاندار با گالیوم-۶۷ و تکنسیوم۹۹m-

## بحث

امروزه تصویربرداری از تومورهای سرطانی و تشخیص متاستازهای ناشی از آنها امری مهم در طراحی درمان مناسب برای سرطان است. یکی از روشهای انتخابی و مهم در تشخیص سرطانها و متاستازهای ناشی از آنها، روش استفاده از بیوملکولهایی همچون پپتیدهاست. پپتیدها پس از نشاندارسازی با رادیونوکلیدهای گسیلنده گاما و انجام فرایندهای کنترل کیفی به بیمار تزریق شده تا فرایند تشخیص تومورهای سرطانی و مکانهای متاستازی شناسایی گردند. در این مطالعه، پپتید پایه توسط روش فاز جامد و استراتژیFMOC سنتز و سپس با استفاده از HPLC خالص سازی گردید و ساختارهای ناقص از آن جدا شدند، ارزش تحقیقاتی و مهم این کار تکنیک استفاده از فضا دهنده گابا است که با افزودن آن به توالی پپتیدی افزایش میزان درون روی و پایداری ترکیب نسبت به نمونه های قبلی افزایش یافت. پپتید تهیه شده با استفاده از روش غیر مستقیم و با رادیونوکلیدهای $^{67}Ga$ و $^{99m}Tc$ توسط شلاتورهای مختلفی همچون DOTA و Hynic نشاندار گردید. با توجه به بررسی پایداری دو ترکیب، نتایج نشان می دهد که این ساختار پایه پپتیدی دارای پایداری خوبی در سرم انسانی است و این نتیجه اتصال فضا دهنده به توالی پپتیدی است. بررسی میزان درون روی نشان از نتایج بهت ترکیب نشاندار شده با گالیوم-۶۷ دارد که می توان این درون روی بهتر را به نوع رادیونوکلید نسبت دارد. بررسی توزیع بیولوژیکی در واقع تعیین میزان دفع رادیوپپتید از خون، میزان و مسیر دفع رادیوپپتید، پایداری درون تنی رادیوپپتید، میزان جذب و نگهداری در بافت های با گیرنده مثبت می باشد، پپتیدها در خون متابولیزه شده و متابولیت های نشاندار شده ممکن است سریع از خون دفع نشوند و همچنین اتصال به پروتئین از عواملی می باشد که باعث بالا رفتن پس زمینه خونی می شوند. اتصال به پروتئین سبب می شود تا زمان استخراج پپتید از خون از چند دقیقه به چندین ساعت افزایش یابد. علاوه بر خون، بررسی بافت های مهم دیگری همچون کلیه و کبد که بافت های دفع پپتید هستند مهم و اساسی است، در ضمن سرعت دفع آن از اندام های با گیرنده منفی (بجز کلیه



Archive of SID
www.SID.ir

ها) قابل قبول می باشد. ترکیب نشاندار میزان جذب مناسبی را در تومور و پانکراس دارد. مقایسه دو ترکیب نشاندهنده نسبت جذب مناسب تومور به کلیه و تومور به پانکراس ترکیب نشاندار شده با گالیوم-۶۷ نسبت به نمونه نشاندار با $^{99m}Tc$ است.

در این مطالعه ترکیب‌های DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$، HYNIC-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ با استفاده از استراتژی Fmoc استاندارد تهیه گردید. نتایج پایداری نشان داد که هر دو ترکیب دارای پایداری خوبی در سرم انسانی بوده و همچنین ترکیب $^{67}Ga$-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ دارای درون روی بهتری نسبت به $^{99m}Tc$-HYN-IC-GABA-Bombesin (۷-۱۴) NH۲ می باشد. نسبت دوز تومور به کلیه و تومور به پانکراس و همچنین سرعت دفع از خون برای ترکیب $^{67}Ga$-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ بهتر از ترکیب دیگر است. با مقایسه شرایط دو ترکیب می توان بیان نمود که ترکیب $^{67}Ga$-DOTA-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ دارای شرایط بهتری نسبت به $^{99m}Tc$-HYN-IC-GABA-Bombesin (۷-۱۴) $NH_2$ می باشد.

Archive of SID



www.SID.ir

## منابع

(1) Baidoo KE, Lin KS, Zhan Y, Finley P, Scheffel U, Jr Wagner and HN. Design, synthesis, and initial evaluation of high-affinity technetium bombesin analogues. Bioconjug Chem, 1998; 9:218–225.
(2) Breeman WA, Hofland LJ, de Jong M, Bernard BF, Srinivasan A, Kwekkeboom DJ. Evaluation of radiolabelled bombesin analogues for receptor-targeted scintigraphy and radiotherapy. Int J Cancer, 1999;81:658–665.
(3) Chen J, Nguyen H, Metcalfe E, Eaton S, Arunachalam T, Raju. Formulation and in vitro metabolism studies with $^{177}$Lu-AMBA; a radiotherapeutic compound that targets gastrin releasing peptide receptors. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2004; 31 Suppl 2:S281.
(4) Chen X, Park R, Hou Y, Tohme M, Shahinian AH, Bading TR. microPET and autoradiographic imaging of GRP receptor expression with $^{64}$Cu-DOTA-[Lys3] bombesin in human prostate adenocarcinoma xenografts. J Nucl Med, 2004; 45:1390–1397.
(5) Cuttitta F, Carney DN, Mulshine J, Moody TW, Fedorko J, Fischler A. Bombesin-like peptides as autocrine growth factors in human small-cell lung cancer. Nature, 1985;316:823-826.
(6) Hoffman TJ, Gali H, Smith CJ, Sieckman GL, Hayes DL, Owen NK. Novel series of $^{111}$In-labeled bombesin analogs as potential radiopharmaceuticals for specific targeting of gastrinreleasing peptide receptors expressed on human prostate cancer cells. J Nucl Med, 2003;44:823–831.
(7) Karra SR, Schibli R, Gali H, Katti KV, Hoffman TJ, Higginbotham C. $^{99m}$Tc labeling and In Vivo Studies of a Bombesin Analogue with a Novel Water-soluble Dithiadiphosphine-based Bifunctional Chelating Agent. Bioconj Chem, 1999;10(2):254-260.
(8) La Bella R, Garcia-Garayoa E, Langer M, Blauenstein P, Beck- Sickinger AG, Schubiger PA. In vitro and in vivo evaluation of a $^{99m}$Tc (I)-labeled bombesin analogue for imaging of gastrin releasing peptide receptor-positive tumors. Nucl Med Biol, 2002;29:553–560.
(9) Mahmoud S, Staley J, Taylor J, Bogden A, Moreau JP, Coy D. Bombesin analogues inhibit growth of small cell lung cancer in vitro and in vivo. Cancer Res, 1991;51:1798-1802.
(10) Nock B, Nikolopoulou A, Chiotellis E, Loudos G, Maintas D, Reubi JC. [$^{99m}$Tc] Demobesin 1, a novel potent bombesin analogue for GRP receptor-targeted tumour imaging. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2003;30:247–258.
(11) Nock BA, Nikolopoulou A, Galanis A, Cordopatis P, Waser B, Reubi JC. Potent bombesin-like peptides for GRP-receptor targeting of tumors with $^{99m}$Tc: a preclinical study. J Med Chem, 2005;48:100–110.
(12) Plonowski A, Nagy A, Schally AV, Sun B, Groot K. In vivo inhibition of PC-3 human androgen-independent prostate cancer by a targeted cytotoxic bombesin analogue, AN-215. Int. J. Cancer, 2000;88:652–657.
(13) Preston SR, Woodhouse LF, Jones-Blackett Miller GV, Primrose JN. High-affinity binding sites for gastrin-releasing peptide on human colorectal cancer tissue but not uninvolved mucosa. Br J Cancer, 1995;71:1097-1089.
(14) Scopinaro F, De Vincentis G, Varvarigou AD, Laurenti C, Iori F, Remediani S. $^{99m}$Tc-bombesin detects prostate cancer and invasion of pelvic lymph nodes. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2003;30:1378–1382.
(15) Smith CJ, Gali H, Sieckman GL, Hayes DL, Owen NK, Mazuru DG. Radiochemical investigations of $^{177}$Lu-DOTA-8-Aoc-BBN[7–14]NH2: an in vitro/in vivo assessment of the targeting ability of this new radiopharmaceutical for PC-3 human prostate cancer cells. Nucl Med Biol, 2003;30:101–119.
(16) Smith CJ, Sieckman GL, Owen NK, Hayes DL, Mazuru DG, Kannan R. Radiochemical investigations of gastrin-releasing peptide receptor-specific [$^{99m}$Tc (X)(CO)$_3$-Dpr-Ser-Ser-Ser-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-($NH_2$)] in PC-3, tumor-bearing, rodent models: syntheses, radiolabeling, and in vitro/in vivo studies where Dpr = 2,3-diaminopropionic acid and X = $H_2O$ or P $(CH_2OH)_3$. Cancer Res, 2003;63:4082–4088.
(17) Smith CJ, Volkert WA, Hoffman TJ. Gastrin releasing peptide (GRP) receptor targeted radiopharmaceuticals: a concise update. Nucl Med Biol, 2003;30:861–868.
(18) Van de Wiele C, Dumont F. van Belle S, Slegers G, Peers SH, Dierckx RA. Is There a Role for Agonist Gastrin-releasing Peptide Receptor Radioligands in Tumour Imaging. Nucl Med Commun, 2001;22:5-15.
(19) Zhang H, Chen J, Waldherr C, Hinni K, Waser B, Reubi JC. Synthesis and evaluation of bombesin derivatives on the basis of pan-bombesin peptides labeled with indium-111, lutetium-177, and yttrium-90 for targeting bombesin receptor-expressing tumors. Cancer Res, 2004;64:6707–6715.

Archive of SID

www.SID.ir