



تهیه و کنترل کیفی رادیوداروی $[^{67}\text{Ga}]$ - گالیوم بلئومایسین

امیررضا جلیلیان*، بهروز شیرازی، حمید رفیعی

گروه تولید رادیوایزوتوپ، بخش سیکلوترون، مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای کرج، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۳۱۵۸۵

چکیده: رادیوایزوتوپ گالیوم-۶۷ از سال ۱۳۷۲ به توسط گروه شیمی بخش سیکلوترون تولید شده است و به عنوان رادیوداروی بالینی (کلینیکی) به صورت سترات گالیوم در تشخیص تومورهای مختلف و تعیین محل بافتهای عفونی بکار می‌رود. از آن زمان تا پژوهش اخیر رادیوداروی دیگری که حاوی گالیوم-۶۷ باشد در کشور به مرحله ساخت و بهره‌برداری نرسیده است. از سوی دیگر با توجه به ظرفیت قابل توجه تولید این رادیوایزوتوپ به توسط گروه شیمی سیکلوترون و کاربرد بالینی کمپلکسهای تشخیصی آن، تهیه و بررسی یک محصول جدید به نام رادیوداروی $[^{67}\text{Ga}]$ - گالیوم بلئومایسین برای نخستین بار در دستور کار این گروه قرار گرفت. بررسیهای کامل به منظور تعیین بهترین شرایط انتخاب دما، اسیدیته، مدت عمل واکنشگرها و غلظت آنها به عمل آمد. نتایج حاصل نشان دادند که بلئومایسین در محیط اسیدی شدید ($\text{PH}=1$) در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۳۰ دقیقه در حضور گالیوم-۶۷، در محیط آب نمک‌دار نرمال به صورت کمپلکس گالیوم کلراید در می‌آید. کنترل‌های کیفی، از جمله رادیونوکلایدی، رادیوشیمیایی، شیمیایی، میکروبی و وجود مواد تب‌آور، روی محصولات اولیه انجام گرفت که می‌توان آنها را نشانه مرغوبیت محصول دانست.

واژه‌های کلیدی: رادیودارو، گالیوم بلئومایسین، سیکلوترون، رادیوایزوتوپ

Development of ^{67}Ga -Bleomycin Complex for Tumor Imaging

A.R. Jalilian*, B. Shirazi, H. Rafiee

Cyclotron Dept, Research Center for Agriculture & Medicine (RCAM), AEOL, P.O. Box: 31585, Karaj - Iran

Abstract: The preparation and condition for optimization of ^{67}Ga -labeled bleomycin complex (^{67}Ga -BLM) were undertaken for evaluation of its in vitro/in vivo tumor imaging behavior. Bleomycin (BLM) was successively labeled with ^{67}Ga -gallium chloride obtained from an irradiated ^{68}Zn -metal solid target prepared by electrodeposition at 18 MeV. The best results were obtained at the $\text{pH}=1$ in normal saline as the solvent at 100°C in 30 min. Radio thin layer chromatography showed an overall radiochemical yield of 90-94% at the optimized conditions with a specific activity of about 1.39 mCi/mmol and radiochemical purity greater than 93% in 15 min. The final complex was checked by other chromatographic methods to ensure the formation of only one species followed by filtration through a 0.22μ filter.

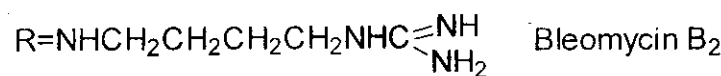
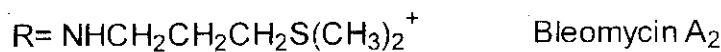
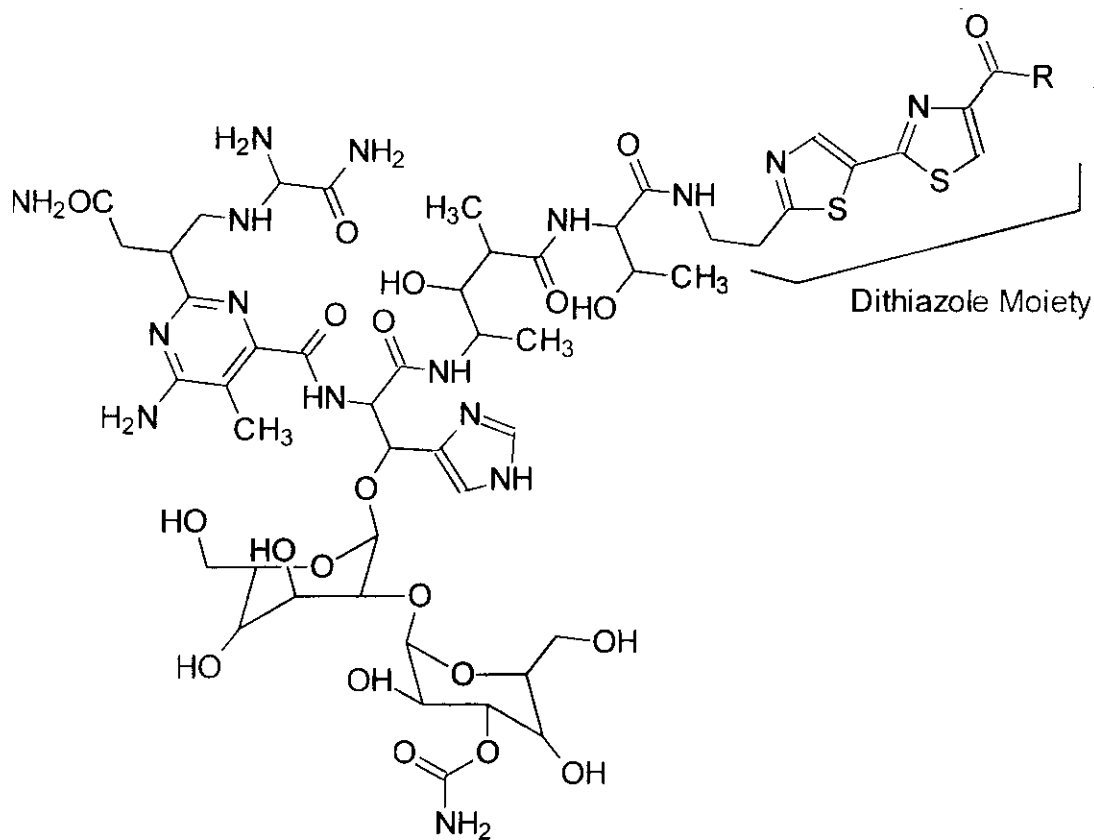
Keywords: radio pharmaceutical, gallium-67 bleomycin, cyclotron, radioisotope

*- e-mail: ajalili@scaei.neda.net.ir

۱- مقدمه

بلنومایسین^(۱) گلیکوپپتیدی با فرمول نسبتاً پیچیده است (شکل ۱) که در ۱۹۶۵ به توسط یک گروه تحقیقاتی ژاپنی از محیط کشت میکروبی استرپتومایسس ورتسیلوس^(۲) به صورت گرد سفید رنگی بدست آمده است [۱]. بررسیهای به عمل آمده نشان داده اند که این ماده مخلوطی از چند مولکول بسیار مشابه است [۱] که از همه مؤثرتر نوع A_۲ می باشد [۲]. این ماده آنتی بیوتیکی است دارای خواص

ضدتومورهای بدخیم مانند کارسینومای یاخته های لایه ای^(۳) - بیماری لنفوم هوچکین^(۴) - سرطانهای بیضه [۳] و بسیاری از تومورهای لنفاوی که خاصیت بسیار جالب آن عدم وجود عوارض جانبی بر روی مغز استخوان است. این ماده فقط از راه تزریق قابل استفاده بوده و به سبب دارا بودن گروههای آمین و هیدروکسیل متعدد، در آب به خوبی حل می شود، بنابراین ۷۰ درصد آن پس از تزریق طی ۲۴ ساعت اولیه از بدن دفع می گردد [۴].



شکل ۱- شکل مولکولی مواد موجود در نمونه استخراجی بلنومایسین



پایدار است و مدتها در محلول باقی می‌ماند، حتی می‌توان آنرا در اتوکلاو استرون کرد، اما در مورد کمپلکس رادیوداروی گالیوم بلئومایسین و تولید و پایداری آن اطلاعات چندانی در دست نیست؛ تحقیقات جدیدی اخیراً بر پایه خواص برتر پرتودرمانی رادیوایزوتوپهای دارای الکترون اوژه، مانند ید-۱۲۵، تالیوم-۲۰۱، گالیوم-۶۷ و ایندیوم-۱۱۱ در مراجع علمی مندرج است [۱۱ و ۱۲]. به نظر می‌رسد، با توجه به برد کوتاه این الکترون‌ها، انهدام موضعی ریزاندامکهای یاخته‌ای بدون پرتوتابی اضافی روی سایر ریزاندامکهای یاخته صورت می‌گیرد. این‌گونه مطالعات درباره کمپلکس $[^{111}\text{In}]$ -ایندیوم بلئومایسین نیز صورت گرفته است [۱۳].

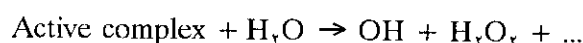
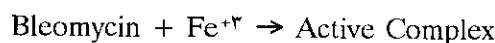
در این کار پژوهشی، با توجه به چگونگی پراکنش الکترون اوژه و پرتو گاما از رادیوایزوتوپ گالیوم-۶۷، بر آن شدیم که ضمن تهیه رادیوداروی گالیوم بلئومایسین به عنوان رادیوداروی تشخیصی-درمانی، به بهینه‌سازی کلیه شرایط واکنش و مطالعه پایداری این کمپلکس پردازیم.

۳- بخش تجربی

۳-۱- مواد و وسایل: بلئومایسین به صورت نمک سولفات (BLEO-S) ساخت شرکت داروسازی Nippon Kayaku ژاپن است که دسترسی به آن، از طریق داروخانه سیزده آبان، وابسته به دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران صورت گرفت. طیف IR نمونه دارویی، با تهیه قرص‌های KBr، به وسیله طیف‌نگار Perkin-Elmer 781 تهیه شد؛ نقطه ذوب نمونه با دستگاه ساخته شده در بخش سیکلوترون کنترل شد^(۱۰)؛ کروماتوگرافی مواد نشاندار نشده روی لایه نازک، با استفاده از لایه سیلیکاژل روی پایه آلومینیومی مدل: TLC Ready Foils Schleicher & Schuell, F 1500/LS 254, 20×20cm صورت گرفت. اجزای فاز متحرک (متانول-آمونیم استات ۱۰٪) از کمپانی Aldrich تهیه شد. آکتیویته ویژه ماده نشاندار شده با استفاده از منحنی استاندارد حاصل از ماده نشاندار شده روی کروماتوگرام حساب شد. رادیوکروماتوگرافی روی یک مسوور متحرک

۲- ساز و کار اثر

در آزمایشهای اولیه مشخص شد که یونهای دو ظرفیتی مانند Ca^{+2} ، Mg^{+2} و ... اثر این آنتی‌بیوتیک را زایل می‌کنند [۵] ولی آن برعکس، در نمونه‌های آزمایشگاهی^(۵) آلوده به یونهای سه ظرفیتی، مانند Fe^{+3} و ...، فعال می‌شود. در مطالعات بعدی مشخص شد که این ماده در بدن ابتدا با Fe^{+3} تولید یک کمپلکس غیرمشخص می‌کند سپس بخش دی‌تيازول این کمپلکس، به علت شباهت داشتن با نوکلئوتیدها، وارد ستر DNA شده و آن را غیرفعال می‌سازد [۶]؛ کمپلکس حاصل مانند یک سیستم اکسیدکننده عمل کرده و آب را به بنیانهای فعال آزاد تبدیل می‌نماید و این بنیانها باعث انهدام پیوندهای فسفودی‌استر DNA می‌شوند [۷].



این ساز و کار نشان می‌دهد که:

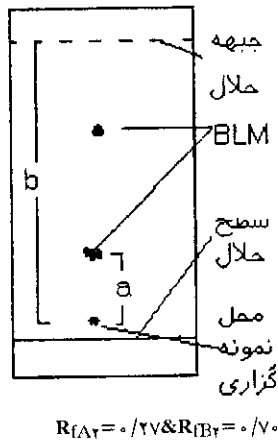
۱- آنتی‌بیوتیک روی یاخته‌ها یا هسته‌های کامل^(۱) و ناقص^(۷) بطور یکسان عمل می‌کند.

۲- عمل آن روی فازهای G_1 ، G_2 و S میتوزی^(۸) می‌باشد.

۳- بلئومایسین ممکن است با یونهای ۳ ظرفیتی Ga^{+3} ، In^{+3} کمپلکسهای فعال تشکیل دهد.

در تحقیقات پیشین، بلئومایسین با یونهای رادیوآکتیوی مانند Co^{+3} - ^{57}Co ، Fe^{+3} - ^{58}Fe ، تشکیل کمپلکس داده [۸] و برای تشخیص و درمان تومورهای مختلف بکار رفته است ولی نیمه عمر طولانی این عناصر مانع کاربرد وسیع بالینی آنها شده است. با پیشرفت سریع در امر تولید و کاربرد عناصری با نیمه عمر مناسب، فن «برش‌نگاری با گسیل تک فوتون»^(۹) توجه دانشمندان را به عناصری مانند ایندیوم-۱۱۱ و تکنسیم-۹۹m و ... معطوف داشت که به لحاظ کاربرد بالینی مقبولیت مناسب داشتند [۹]؛ این ترکیبات تحت مطالعه و بررسی قرار گرفتند و در نهایت، عنصر ایندیوم-۱۱۱ بهتر از بقیه تشخیص داده شد [۱۰].

کمپلکس رادیوداروی $[^{111}\text{In}]$ -ایندیوم بلئومایسین بسیار



$$R_{f(A_2)} = 0.27 \text{ و } R_{f(B_2)} = 0.07$$

شکل ۲- کروماتوگرام فرابنفش نمونه (BLM) بلئومایسین در سیستم فاز

متحرک متانول-آمونیم استات $R_{f(A_2)} = 0.27$ و $R_{f(B_2)} = 0.07$

۴- یافته ها و بحث

مدت نشاندارسازی و فرمول‌بندی رادیوداروی گالیوم بلئومایسین حدود ۳۰ دقیقه بود و بازده رادیوشیمیایی ۸۵٪ تا ۹۵٪ بدست آمد. در هر بار نشاندارسازی، نسبت سطوح رادیوپیک‌های رادیوداروی $[^{75}\text{Ga}]$ -گالیوم بلئومایسین در $R_f = 0.27$ و $R_f = 0.07$ یکسان و برابر نسبت غلظت بلئومایسین‌های A_2 و B_2 ($CB_2/CA_2 = 0.27$) می‌باشد. این مقدار دقیقاً نشانگر نسبت همپاری (ایزومری) دو هماننده (همولوگ) اصلی نمونه دارویی است. شکل همپار (ایزومر) A_2 که بیشترین جذب فرابنفش را دارد بزرگتر و مقدار آن هم بیشتر است و رادیوآکتیویته بیشتری را جذب می‌کند. این ایزومر به سبب دارا بودن گروه نمکی دی‌متیل‌تیونیوم $(S(\text{CH}_3)_2)^+$ قطبی‌تر بوده و R_f کمتری دارد (۰/۲۷). در حالیکه شکل ایزومری B_2 و اسید بلئومایسینیک کمترین جذب فرابنفش را دارند و مقدارشان نیز کمتر و در نتیجه، جذب رادیو آکتیویته آنها کمتر است. این ایزومرها به علت دارا بودن گروه‌هایی مانند COOH - و NH_2 - که به لحاظ قطبش تقریباً مشابه و ضعیف‌ترند، R_f بیشتری در حدود ۰/۷ دارند. این دو ایزومر نیز به نسبتی که در نمونه دارویی وارد می‌شوند، با یون گالیوم-۶۷ تشکیل کمپلکس می‌دهند. بنابراین از راه محاسبه نسبت آکتیویته این دو پیک می‌توان به نسبت ایزومری دارویی بلئومایسین پی برد. به عنوان مثال، این نسبت ایزومری در حدود 30 ± 5 درصد برای شکل ایزومری

مجهز به آشکارساز ژرمانیوم فرا خالص، مدل (CanberraTM, GC1020-7500SL) با استفاده از لایه‌های سیلیکاژل روی پایه آلومینیوم صورت گرفت [۱۵].

۳-۲- کنترل کیفی: بلئومایسین ماده‌ای است بیرنگ یا سفید مایل به زرد که نمونه تجارتي آن به صورت منجمد و خشک شده^(۱۱) موجود است. در صورت وجود ناخالصیهای فلزی مانند مس و آهن، به رنگ آبی یا بنفش در می‌آید. نمونه تجارتي به روش TLC در شکل ۲ نشان داده شده است.

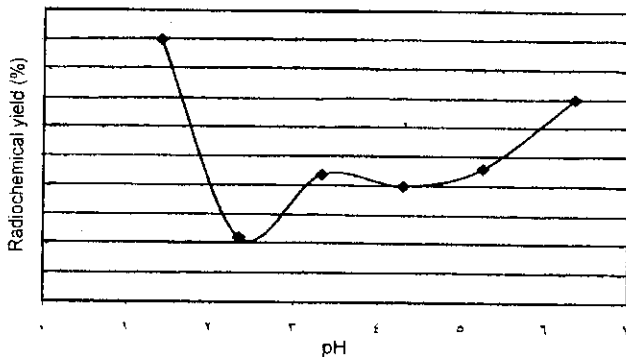
۳-۳- نشاندارسازی: محلول آبی $[^{75}\text{Ga}]$ -گالیوم کلراید حاصل از بمباران هدف جامد تهیه شده از آبکاری اکسید روی-۶۸ (غنی‌سازی شده به وسیله دستگاه جداکننده یونی مرکز تحقیقات کشاورزی-پزشکی هسته ای کرج) با انرژی حدود ۱۸ میلیون الکترون‌ولت بدست می‌آید. گالیوم-۶۷ دارای فوتوپیکهای اصلی (۲۴٪) و (۴۰٪) و (۲۲٪) و (۲۹۶٪) و (۷٪) ۳۷۸ کیلوالکترون-ولت و نیمه عمر ۷۸ ساعت است. کلیه شمارشها با استناد به پیک ۲۹۶ کیلوالکترون - ولت صورت گرفت. ۱ میلی‌لیتر محلول رادیوآکتیو (۵/۰ میلی‌کوری) در لوله آزمایش ۲ میلی‌لیتری با افزودن محلول اسید کلریدریک نرمال، به اسیدیته مورد نظر رسانده شد. این مخلوط به وسیله جریان هوا و حرارت ملایم خشک شد. پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر محلول آب نمک نرمال حاوی ۵/۰ میلی‌گرم بلئومایسین، مخلوط ضمن بهم خوردن به مدت‌های ۱۵، ۲۵، ۴۵، ۶۰، ۷۵ دقیقه به ترتیب در دماهای ۲۵، ۴۵، ۸۰، ۹۵، ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد حرارت دید. پس از رساندن دمای این محلول رادیوآکتیو به دمای محیط، کنترل کیفی آن به روش کروماتوگرافی روی لایه نازک سیلیکاژل با حلال استات آمونیوم-متانول ۱:۱ به عنوان فاز مستحکم مورد بررسی قرار گرفت؛ جداسازی رادیوشیمیایی به صورت دو رادیوپیک رادیوداروی $[^{75}\text{Ga}]$ -گالیوم بلئومایسین در $R_f = 0.27$ و $R_f = 0.07$ بدست آمد. به منظور یافتن بهترین شرایط واکنش، آزمایشهای متعددی برای تعیین مقادیر اسیدیته، مدت واکنش، غلظت بلئومایسین و دما انجام گرفت.

۳-۴- بهینه سازی شرایط نشاندارسازی

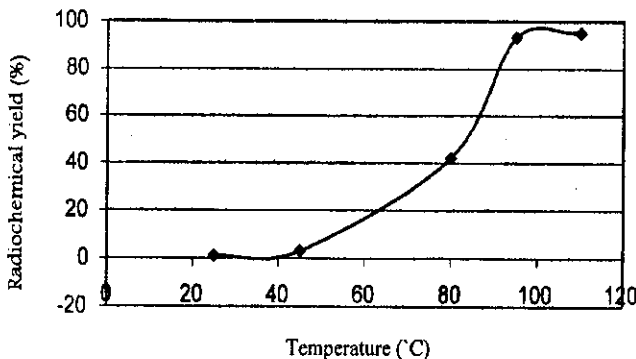
به منظور انتخاب بهترین شرایط واکنش، آزمایشهای متعددی برای تعیین دما، مدت واکنش و نسبت بلئومایسین به آکتیویته انجام گرفت:

الف) اثر اسیدیته: چون بلئومایسین دارای گروههای فعال شیمیایی است که به محیط بازی حساسند، افزایش مقادیر نسبی باز باعث تخریب کمپلکس می شود، بنابراین، با کاهش اسیدیته بازده شیمیایی کاهش می یابد (نمودار ۱).

ب) اثر دما: افزایش درجه حرارت واکنش تا 95°C باعث افزایش بازده می شود. از 95 تا 110 درجه سانتیگراد تغییری در بازده مشاهده نشده است. چون احتمال شکستگی مولکولی و تخریب آن در دماهای بالا بیشتر است، دمای 100 درجه سانتیگراد به عنوان دمای بهینه انتخاب شد (نمودار ۲).



نمودار ۱- رابطه pH و نسبت آکتیویته ^{67}Ga - گالیوم بلئومایسین به گالیوم آزاد در 80°C



نمودار ۲- رابطه دما و نسبت آکتیویته ^{67}Ga - گالیوم بلئومایسین به گالیوم آزاد در $\text{pH}=1.1$

B_2 و اسید بلئومایسینیک و 70 ± 5 درصد برای شکل ایزومری A_2 است. مقادیر ذکر شده در مراجع از 55 تا 75 درصد برای شکل ایزومری A_2 و از 25 تا 32 درصد برای شکل ایزومری B_2 و اسید بلئومایسینیک است [۱۷].

نسبت ایزومری هم شکل‌های بلئومایسین، با استفاده از داده‌های بدست آمده از نسبت جذب رادیوگالیوم در کمپلکس بلئومایسین حساب شده و جرم مولکولی آنها نیز بطور تقریبی قابل محاسبه است (جدول ۱).

۱-۴- محاسبه میانگین جرم مولکولی

اگر M_1, M_2, \dots, M_n به ترتیب جرمهای مولکولی هم شکل‌های متفاوت و X_1, X_2, \dots, X_n درصد فراوانی آنها باشند جرم مولکولی میانگین M برابر است با:

$$M = (M_1 X_1 + M_2 X_2 + \dots + M_n X_n) / 100$$

بنابراین:

$$M = (1509 \times 70 + 1519 \times 15 + 1407 \times 15) / 100 = 1495 / 22$$

۲-۴- محاسبه آکتیویته ویژه

اگر A آکتیویته بکار رفته در یک فرمول بندی (0.5 میلی کوری)، Ra بازده نشاندارسازی (93 درصد)، M جرم مولکولی میانگین ($1495/22$) و W جرم ماده مصرفی (0.5 میلی گرم باشد) آکتیویته ویژه A_s چنین حساب می شود:

$$A_s = (A \times R_A \times M / W) \times 10^{-6}$$

اندازه این آکتیویته ویژه معادل $1/39 \text{ mCi/mmole}$ خواهد بود.

جدول ۱- داده‌های فیزیکی هماننده‌های نمونه دارویی بلئومایسین

هم شکلها	فرمول بسته مولکولی	جرم مولکولی (گرم)	فراوانی (درصد)
A_2	$\text{C}_{55}\text{H}_{83}\text{N}_{17}\text{O}_{21}\text{S}_2$	۱۵۰۹	۷۰
B_2	$\text{C}_{55}\text{H}_{83}\text{N}_{17}\text{O}_{21}\text{S}_2$	۱۵۱۹	۱۵
اسید بلئومایسینیک	$\text{C}_{55}\text{H}_{83}\text{N}_{17}\text{O}_{21}\text{S}_2$	۱۴۰۷	۱۵

ه) بررسی پایداری: پس از گذشت چندین ساعت هم تغییری در درجه خلوص رادیوشیمیایی محلول کمپلکس نشاندار شده مشاهده نشد که این خود نشانگر پایداری کمپلکس رادیودارویی تهیه شده است.

و) فرمول بندی: گالیوم- ^{67}Ga واکنش نداده قابل جداسازی از محلول نهایی است ولی به سبب حصول درصد خلوص فارماکوپه ای قابل صرف نظر است. ماده حاصل، پس از عبور از صافی میکروپزدای $0.22\ \mu\text{m}$ میکرونی به آسانی قابل تجویز به بیمار بوده و به سبب درجه خلوص رادیوشیمیایی بالای $95-90\%$ درصد، که عاری از حاملی با آکتیویته ویژه بالا می باشد برای ارسال به مراکز احتمالی درخواست کننده رادیودارو در آینده مناسب است.

۵- نتیجه گیری

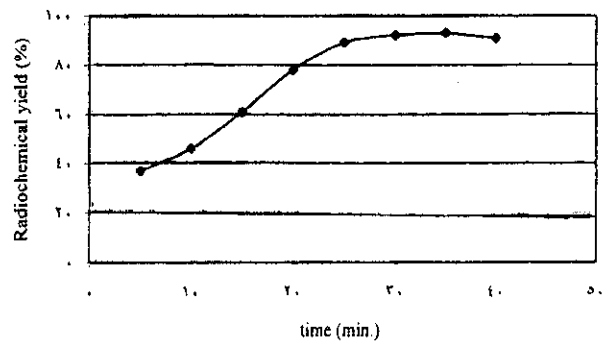
در این پژوهش، که به منظور تهیه کمپلکس رادیودارویی ^{67}Ga - گالیوم بلئومایسین انجام گرفت، طی آزمایشهای متعدد، شرایط بهینه انتخاب دما، غلظت، مدت واکنش و اسیدیته محیط عمل، در مراحل انجام واکنش شیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان می دهند که با افزایش 0.5 میلی گرم بلئومایسین به 0.5 میلی کوری گالیوم- ^{67}Ga به صورت گالیوم کلراید خشک و نگهداشتن واکنش به مدت 25 دقیقه در دمای 90 تا 100 درجه سانتی گراد، رادیوداروی ^{67}Ga - گالیوم بلئومایسین، با بازدهی رادیوشیمیایی 90 تا 95% درصد و آکتیویته ویژه حدود $1/39$ میلی کوری بر میلی مول حاصل می شود.

تشکر و قدردانی

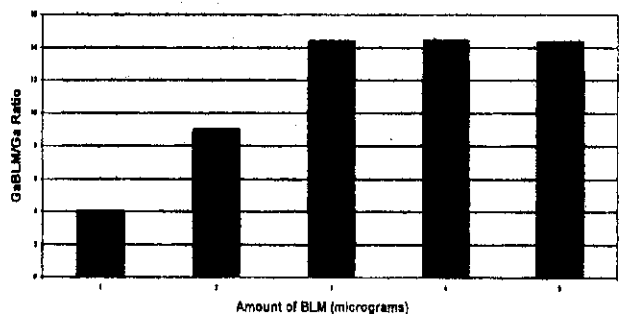
انجام این کار پژوهشی جز با همکاریهای بیدریغ گروه کارگردانی سیکلوترون در انجام بمبارانها و طراحی دستگاه جستجوگر رادیو کروماتوگرام میسر نبوده و موجب سپاسگزاری است. همچنین به ویژه از خانم مهندس مطلوبی در تهیه گالیوم کلراید تشکر و قدردانی می شود.

ج) اثر زمان: در دمای بهینه 100 درجه سانتی گراد بازده رادیوشیمیایی ابتدا تا 25 الی 30 دقیقه افزایش یافت، سپس تغییر محسوسی نکرد (نمودار ۳). خلوص ماده نهایی با روش رادیوکروماتوگرافی بدقت مطالعه شد و آکتیویته ویژه حدود $1/39\ \text{mCi/mmol}$ محاسبه شد.

د) اثر نسبت آکتیویته به بلئومایسین: با انتخاب آکتیویته 0.5 میلی کوری به صورت گالیوم کلراید، مقادیر 0.1 ، 0.25 ، 0.5 ، 0.75 و 1 میلی گرم بلئومایسین در شرایط پیش گفته واکنش یافتند؛ بهترین نسبت برای تقریباً 0.5 میلی گرم حاصل شد و از آن بیشتر تغییری در بازده مشاهده نشد. بنابراین، برای کاهش میزان بلئومایسین نشاندار نشده که در اتصال با سلول سرطانی با داروی نشاندار شده رقابت می کند و همچنین جلوگیری از اتلاف داروی گرانیقیمت و کاستن از آثار سمی احتمالی آن، مقدار 0.5 میلی گرم به ازای 0.5 میلی کوری گالیوم کلراید به عنوان مقدار مناسب تعیین گردید؛ این مقدار مشابه نسبتی است که برای ایندیوم بلئومایسین تعیین شده بود (نمودار ۴).



نمودار ۳- رابطه مدت زمان واکنش و نسبت آکتیویته $[^{67}\text{Ga}]$ - گالیوم بلئومایسین به گالیوم آزاد در $\text{pH}=1$ و 100 درجه سانتی گراد



نمودار ۴- رابطه مقدار بلئومایسین (BLM) با نسبت آکتیویته $[^{67}\text{Ga}]$ - گالیوم بلئومایسین به گالیوم آزاد ($\text{pH}=1$ و 100 درجه سانتی گراد)



پی‌نوشت‌ها:

- ۱- bleomycin
- ۲- streptomyces verticillus
- ۳- squamous cell tumors
- ۴- hodgekin's lymphoma
- ۵- in vitro
- ۶- eucaryote (eukaryote)
- ۷- procaryote (prokaryote)
- ۸- mitosis
- ۹- single photon emission tomography
- ۱۰- اطلاعات فنی برای انتشار در حال آماده‌سازی است.
- ۱۱- lyophilized

References

1. H. Umezawa, Antimicrob. Ag. Chemother, 1079 (1965).
2. H. Umezawa, J. antibiot. **19**, 200-210 (1966).
3. T. Takita, ibid. **25**, 755 (1972).
4. Proceedings of first international symposium on Bleomycin, London, Lundbeck Ltd., Welwyn, Herts. p: 1972 (1973).
5. H. Umezawa, Proceeding of the euchem conference on antibiotics, Arhus, Denmark (September 1972).
6. شیمی دارویی، تالیف آندریوس کورولکوکواس، جلد دوم، ترجمه دکتر عباس شفیعی و همکاران، انتشارات دانشگاه تهران، چاپ اول، بخش چهارم، فصل هفدهم. صفحات ۱۵۰۱-۱۵۰۲ (زمستان ۱۳۷۶).
7. Umezawa, Antimicrob. Ag. Chemother. **19**, 210 (1966).
8. R. M. Burger et al. Life Sci. **28**, 715 (1981).
9. J.P. Nouel, H. Renault, J. Robert, C. Jeanne, L. Wicart, La Nouvelle Press Medicale **1**, 95 (1972).
10. N. Marugesan et al. J Biol Chem **257**, 8600 (1982).
11. D.M. Taylor, Radiat. Prot. Dosim. **92**(1-3), pp: 229-231 (2000).
12. H.A. Jaaskela-Saari, et al. Acta Otolaryngol Suppl. **529**, 241-4, (1997).
13. K.J. Kairemo, et al. Eur J Nucl. Med. **23**(6), pp: 631-8 (1996).
۱۴. ع.ا. جعفری خسرمی و همکاران، "گزارش سالیانه بخش سیکلوترون"، (۱۳۷۷).