



تهیه کیت [^{131}I] متا یدو بنزیل گوانیدین (^{131}I -MIBG)

علی ستاری*

مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۴۹۸-۳۱۴۸۵، کرج-ایران

چکیده: متا یدو بنزیل گوانیدین به عنوان هم فرمول "نوراپینفرین" با اتصال به ید رادیوآکتیو به صورت ^{131}I -MIBG و ^{125}I -MIBG به ترتیب برای تشخیص و درمان اختلالات غده فوق کلیوی، مانند فتو کروموسیتوما و نوروبلاستوما بکار رفته است. در این کار پژوهشی روشی سریع برای تولید ^{131}I -MIBG عرضه شده است. متا یدو بنزیل گوانیدین در مجاورت محلول سولفات مس به ^{131}I اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. اساس این کار بر مبنای واکنش جانشینی هسته دوست با حضور یون Cu^{+1} و عوامل احیا کننده کمکی با حرارت دادن محیط واکنش استوار است. برای تنظیم pH و هم تنش کردن محلول از بافر سیترات استفاده شد. در این روش، درجه خلوص رادیوشیمیایی بیش از ۹۰٪ بدست آمد. برتری این روش که آن را نسبت به روش‌های دیگر متمایز کرده است سهولت تهیه و کنترل سریع آن در مراکز پزشکی هسته‌ای است.

واژه‌های کلیدی: گوانیدین، ید رادیوآکتیو، ید دار کردن، واکنش هسته دوست

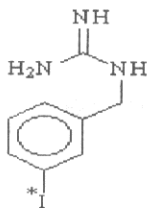
Fast Preparation of ^{131}I -MIBG

A. Sattari*

Nuclear Research Center for Agriculture and Medicine, AEOL, P.O.Box: 31485 - 498, Karaj - Iran

Abstract: Meta-iodobenzylguanidine (MIBG) is used for the diagnostic scintigraphy and therapy of adrenal tumors such as pheaeochromocytoma and neuroblastoma, as well as for the scintigraphic assessment of cardiac sympathetic neuronal integrity. This paper reviews the Cu^{+1} assisted nucleophilic exchange radioiodination of meta-iodobenzylguanidine (MIBG). In this study a kit formulation of meta-iodobenzylguanidine ready to be labeled with ^{131}I without purification step is presented. Radioiodination had involved a nucleophilic exchange assisted by Cu (I) generated 'in situ' and excess of reducing agents. An acceptable radiochemical yield $\geq 90\%$ is obtained between 95-100°C within 30 min. The pH was adjusted by citrate buffer. Chemical and radiochemical purity of ^{131}I -MIBG were determined by tin layer chromatography (TLC). The developed kit followed by a simple radiochemical manipulation allows preparing ^{131}I -MIBG at medical centers.

Keywords: guanidine, ^{131}I , iodination, nucleophilic exchange



شکل ۲- مولکول *I-MIBG

۲- مواد و محلول های مورد مصرف MIBG تهیه شده از شرکت SIGMA

ید-۱۳۱ تهیه شده در مرکز تحقیقات هسته ای سازمان انرژی اتمی ایران

برای انجام دادن آزمایش سه نوع محلول مورد نیاز بود:

- محلول مس، شامل ۳۲/۵ میلی گرم سولفات مس در ۱۰۰ cc آب دوبار تقطیر شده
- محلول حامل حاوی: ۱/۵ mg سولفات قلع، ۴۴ mg اسید سیتریک، ۲۰ میلی گرم ۲-۵ دی هیدروکسی بنزوئیک اسید در ۲ cc آب دو بار تقطیر شده

- محلول ید ۱۳۱، به صورت $Na^{131}I$ ۵ mCi/ml

۳- روش آزمایش

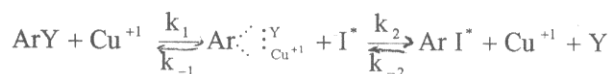
در یک ویال ۵ میلی لیتری ویژه واکنش^(۳)، ۱ میلی گرم MIBG، ۵۰۰ میکرو لیتر محلول حامل، ۳۰۰ میکرو لیتر محلول سولفات مس و ۱ میلی لیتر محول حاوی ۶ میلی کوری ید-۱۳۱ به آن اضافه کرده و آن را با درپوش پلاستیکی و آلومینیومی کاملاً بسته ایم و محلول را به وسیله سرنگ به مدت ۵ دقیقه در معرض گاز نیتروژن قرار داده ایم، سپس ویال را درون محفظه ای (شکل ۳) که آماده کرده بودیم گذاشته و آنرا به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده ایم و با یک آشکارساز در تمام مدت آزمایش امکان آلودگی را که بر اثر متصاعد شدن بخار ید ممکن بود به وجود آید بررسی و کنترل کرده ایم (شکل ۴). آزمایش کلاً درون یک هود با حفاظ سریبی (شکل ۵) انجام گرفته است.

برای هم تنش^(۴) کردن محلول و تنظیم pH آن لازم بود که محلولی تهیه شود تا علاوه بر سازگاری با هم تافت^(۵) حاصل، pH محلول را به سوی pH فیزیولوژیکی سوق دهد. هم تنش کردن، بر مبنای تعیین مقدار بر اساس نزول نقطه انجماد صورت گرفت.

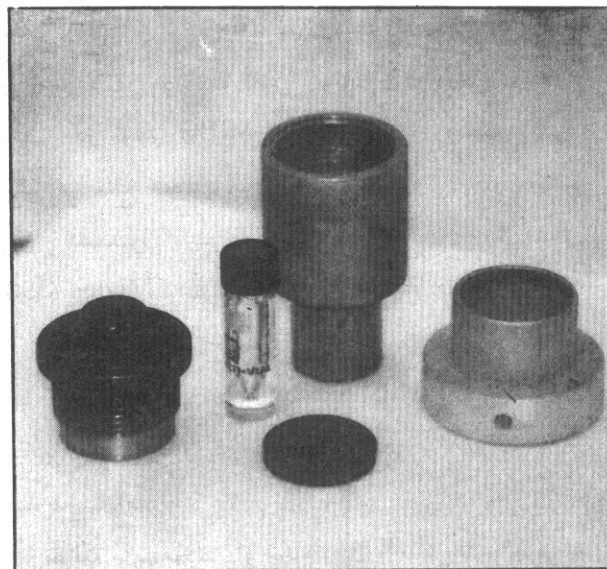
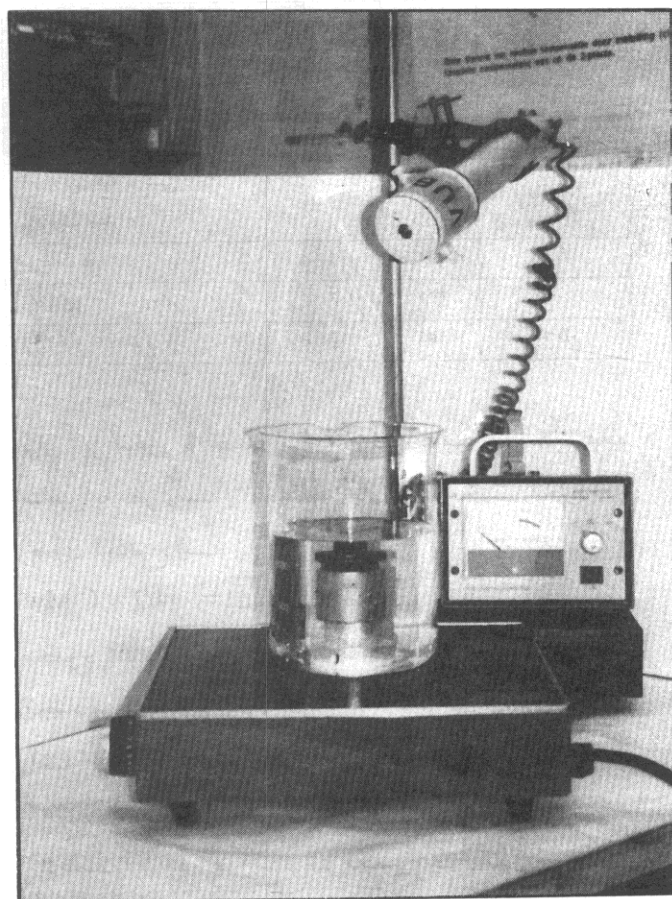
۱- مقدمه

غدد فوق کلیوی، که جرم هر یک تقریباً ۴ گرم است، در سطح فوقانی دو کلیه قرار گرفته و از دو قسمت مجزای مغزی (medulla) و قشری (cortex) تشکیل شده اند. قسمت مغزی به سیستم عصبی مرتبط بوده و هورمون های اپینفرین و نوراپینفرین را در پاسخ به تحریک های سمپاتیک تراوش می کند و قسمت قشری کورتیکواستروئیدها را ترشح می نماید [۱]. در دهه ۷۰ دریافتند که گوانیدین به عنوان عامل مسدودکننده اعصاب آدرنژیک (که موجب ترشح آدرنالین می شوند) به طور انتخابی عمل می کند و در قسمت مرکزی غدد فوق کلیوی جمع می شود. با توجه به اینکه این ترکیب را نمی توان با ید نشاندار کرد، فراسنجهای^(۱) متعددی با هم ترکیب و مورد بررسی قرار گرفتند، که از میان آنها متایدوبنزیل گوانیدین بهترین پاسخ را در نشاندار شدن با ید و تجمع آن در غده فوق کلیوی داده است.

متایدوبنزیل گوانیدین (MIBG)^(۲) به عنوان هم فرمول نوراپینفرین به صورت ¹³¹I-MIBG و ¹²⁵I-MIBG به ترتیب برای تشخیص و درمان اختلالات غده فوق کلیوی، از جمله "فوکروموسیتوما" و "نوروبلاستوما" مورد استفاده قرار گرفته است [۲-۵]. اخیراً از این ترکیب برای ارزیابی عملکرد عصب آدرنژیک در عضله قلب استفاده می شود [۶-۹]. در روش عمده برای نشاندار کردن مولکول MIBG به وسیله ید رادیواکتیو گزارش شده است. روش اول واکنش جانشینی در فاز جامد با استفاده از سولفات آمونیوم [۱۰ و ۱۱] و روش دوم واکنش جانشینی هسته دوست با ایجاد Cu^{+1} در محیط واکنش است [۱۵-۱۲]. پس از مطالعه این روشها، روش دوم به عنوان روشی سریع، با درجه خلوص بالاتر به عنوان روش مناسب تر برگزیده شد. در این روش به کمک Cu^{+1} در محیط، واکنش جانشینی با تشکیل ماده واسط صورت می گیرد. شکل ۱ نمای ساده واکنش و شکل ۲ مولکول *I-MIBG را نشان می دهد [۱۵].

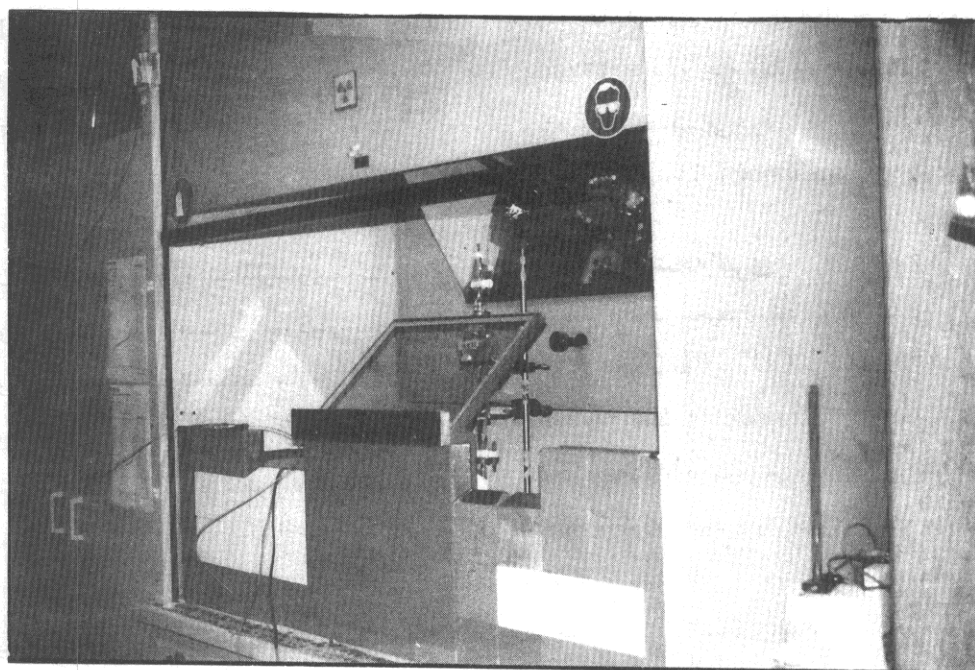


شکل ۱- نمای ساده رادیو یددار کردن آر یل هالیدها. Y نمایانگر هالید، *I نمایانگر ید رادیواکتیو (¹³¹I) که ممکن است یک هالید آکتیو نیز باشد.



شکل ۳- ویال واکنش به همراه ظرف آلومینیومی محافظ

شکل ۴- چگونگی مونیتورینگ مداوم واکنش



شکل ۵- تصویر هود سربی که مراحل آزمایش در آن انجام گرفت

جدول ۱ - غلظت و نزول نقطه انجماد مواد مختلف در محلول

مواد حامل	مقدار مواد (میلی گرم)	غلظت (C)	جرم مولکولی (گرم)	Δt نزول نقطه انجماد °C
اسید سیتریک	۴۴	۰/۸۸	۲۱۰	۰/۱۳۶
۲-۵ دی هیدروکسی بنزونیك اسید	۲۰	۰/۵۰	۱۵۴	۰/۱۰۵
سولفات قلع	۱/۶	۰/۰۴	۲۱۵	۰/۰۰۶
MIBG	۱	۰/۰۲	۳۲۷	۰/۰۰۲
¹³¹ I Na (۰/۰۱ مولار)	۴/۶	۰/۱۶	۱۵۹	۰/۰۳۲

برای این منظور با مطالعه مراجع مختلف، سترات سدیم ماده مناسبی به نظر رسید [۱۳]؛ غلظت‌های مواد مختلف محلول در جدول ۱ مندرج است.

$$\Delta t = -34/2 \times C/Mw$$

مجموع Δt برابر ۰/۲۸۱ درجه سانتی‌گراد و مقدار نزول نقطه

$$\text{انجماد مورد نیاز } (\Delta t = -0.52 = 0.239^\circ\text{C} - 0.281)$$

$$\Delta t = -0.52: \text{ نزول نقطه انجماد محلول هم‌تنش}$$

$$-0.52: \text{ نقطه انجماد محلول } 0.9\% \text{ کلرورسدیم}$$

$$C: \text{ غلظت (گرم در } 100 \text{ سانتی‌متر مکعب محلول)}$$

$$Mw: \text{ جرم مولکولی (گرم)}$$

بر این اساس، مقدار محلول سترات بافر ۸۶ میلی‌گرم بدست آمد که در ۱ سانتی‌متر مکعب محلول بافر به محلول اصلی اضافه شد و در نتیجه pH محلول به ۴/۷ رسید. محلول نهایی در شرایط استریل شدن، و با گذراندن از صافی ۰/۲۲ میکرونی در یک ویال استریل شده گردآوری شد.

۴- نتایج

برای پی‌بردن به درستی عمل نشاندارسازی، کنترل‌های شیمیایی و رادیوشیمیایی و رادیوهسته‌ای مورد نیاز بود. چون رادیوایزوتوپ مورد نیاز در مرکز تحقیقات سازمان تولید شده بود، کنترل رادیوهسته‌ای بر روی آن انجام گرفته و مورد تأیید بود. کنترل شیمیایی و رادیوشیمیایی به منظور تأیید صحت کار برای ما نیز بسیار مهم بود.

۴-۱ خلوص شیمیایی و رادیوشیمیایی

مقادیر I₂ و I⁻ موجود در محلول، به عنوان مهمترین ناخالصی

رادیوشیمیایی مورد توجه است. چون یُد وارد شده در تشکیل هماتافت باید به صورت I-MIBG به بافت هدف (بافت تومورال) برسد، به منظور جلوگیری از تجمع یُد رادیوآکتیو در تیروئید و صدمات ناشی از پرتوتابی آن، ضروریست که مقادیر یُد آزاد و یدور موجود در فرآورده تعیین شوند. چون روش استاندارد مشخصی در تولید I-MIBG گزارش نشده روشهای کنترل متنوعی در منابع مختلف بیان شده است. روش بکار رفته برای کنترل این کیفیت که از روش‌های Wafelman (1994) and Merten (1985) اقتباس شده [۱۵]

و [۱۶]، در جدول ۲ مندرج است.

با کنترل این روشها، مقدار تشکیل I-MIBG¹³¹ بیش از ۹۰٪ و مقادیر تشکیل یُد و یدور به ترتیب کمتر از ۱ درصد و ۱۰ درصد بدست آمد.

با مطالعه منابع مختلف و انجام دادن آزمایش‌های تجربی به این نتیجه رسیدیم که برای تشکیل هماتافت با روش موردنظر، استفاده از حمام آب جوش ضروریست [۱۳ و ۱۴ و ۱۵]. مقدار درصد تشکیل هماتافت و رابطه آن با دمای اعمال شده در جدول ۳ مندرج است.

۴-۲ محاسبه آکتیویته ویژه

اگر مقدار آکتیویته بکار رفته در محلول $A = 6 \text{ mCi/ml}$ ، بازده نشاندارسازی $Ra = 90\%$ ، جرم مولکولی MIBG برابر $M = 327 \text{ mg}$ و جرم ماده مصرفی $W = 1 \text{ mg}$ باشد، آکتیویته ویژه چنین حساب می‌شود $10^{-6} As = (A \times Ra \times M / W)$ مقدار آکتیویته ویژه معادل $1/47 \text{ mCi/mmol}$ خواهد بود.

۵- بحث و نتیجه‌گیری

قلع (Sn) در محیط اسیدی به Sn^{+2} تبدیل می‌گردد و این امر باعث احیای Cu^{+2} به Cu^{+} می‌شود. Cu^{+} با شرکت در تشکیل ماده حله واسط (Complex 1)، واکنش شکل ۱ را به سوی تشکیل I-MIBG سوق می‌دهد؛ در این شرایط یدوری که در محیط محلول وجود دارد ممکن است به I₂ احیا شود؛ برای جلوگیری از تشکیل I₂ باید احیا کننده مناسبی در محیط عمل موجود باشد. ژنتیسیک اسید یا اسکورییک اسید به عنوان احیا کننده و عامل کاهنده pH، برای جلوگیری از تبدیل



بر طبق منابع موجود، تصوّر بر این است که با استفاده از محلول ید خالص (بدون پاداکسیدان) با آکتیویته ویژه بالا، بازده عمل نشاندار کردن از ۹۹٪ تجاوز کند [۱۳ و ۱۴ و ۱۵]. چون این کیت پس از تهیه بی‌درنگ به مصرف می‌رسد آزمایش پایداری درباره آن ضروری نیست. برای استریل کردن محلول نهایی باید با عبور از صافی ۰/۲۲ میکرون در شرایط استریل درون یک ویال استریل قرار گیرد. تهیه این کیت با استفاده از بافر بکار رفته، برای هر تعداد بیمار نیازمند به آن میسر است، و این امراز مزایای دیگر این روش به شمار می‌رود.

هیدرواکسید Sn^{+2} به Sn^{+4} بکار می‌رود. چون این کیت به منظور مصرف در مراکز پزشکی هسته‌ای مورد نظر است، چنین ایجاب می‌کند که کنترل کیفیت در مورد آن با سرعت و سادگی هر چه بیشتر در محل مصرف اجرا شود. کنترل کیفیت به وسیله کروماتوگرافی روی لایه نازک و کروماتوگرافی ستونی با استفاده از Sep-pak روش ساده و سریعی است که استفاده از آن نیاز به تخصص خاصی ندارد. علاوه بر این، روشی است کم هزینه که به آسانی در هر آزمایشگاه یا مرکز پزشکی هسته‌ای قابل اجرا می‌باشد.

جدول ۲- روشهای کروماتوگرافی بکار گرفته شده در آزمایشگاه Q.C برای کنترل کیفیت کیت ^{131}I -MIBG

TLC	فاز متحرک	فاز ثابت	R _f
1	propanol 10%, NH ₄ OH 1:3	سیلیکاژل	MIBG 0.15 , Iodide 0.75
2	Ethanol, Ethyl acetate 1:1	سیلیکاژل	MIBG 0.02 , Iodide 0.75
Extraction	1cc Methanol + 5µl sample + 2ccH ₂ O	Sep-pak	I_2 از ستون خارج شد MIBG در ستون ماند تا در مرحله بعدی با متانول خارج شود

جدول ۳- درصد تشکیل همافت و رابطه آن با دمای اعمال شده

دمای اعمال شده (°C)	۲۰	۳۰	۴۰	۶۰	۹۰
درصد تشکیل همافت	۵	۵	۸	۳۵	۹۰

پی‌نوشت‌ها:

- ۱- Analogs
- ۲- Meta-iodobenzyl-guanidine
- ۳- Reaction vial
- ۴- Isotonic
- ۵- Complex

References:

1. A. C. Guyton, Textbook of Medical Physiology, Seventh Edition, Volume III (1986).
2. D. M. Wieland and D. P. Swanson, "Imaging the adrenal medulla with an I-131-labeled antiadrenergic agent," J. Nucl. Med. **20**, 155 (1979).
3. J. H. Short and T. D. Darby, "Sympathetic nervous system blocking agents. III derivatives of benzylguanidine," J. Nucl. Chem. **10**, 833-840 (1967).
4. D. M. Wieland and J. Wu, "Radiolabeling adrenergic neuron blocking agents: adrenomedullary imaging with 131I-iodobenzylguanidine," J. Nucl. Med. **21**, 349-353 (1980).
5. T. J. Manger and D. M. Wieland, "Synthesis of ¹³¹I and ¹²³I metaiodobenzoguanidine for diagnosis and treatment of pheochromocytoma," J. Nucl. Med. **24**, 118 (1983).
6. R. C. Kline and D. M. Willantetal, "Myocardial imaging in man with I-123-metaiodobenzyl guanidine," J. Nucl. Med. **22**, 129-132 (1981).
7. J. P. Richard, "MIBG sintigraphic assessment of cardiac adrenergic activity in response to altitude hypoxia," J. Nucl. Med. **31**, 34-37 (1990).
8. P. Merlet and F. Pouillort, "Sympathetic nerve alterations assessed with ¹²³I-MIBG in the failing human heart," J. Nucl. Med. **40**, 224-237 (1999).
9. A. Satoh and T. Serita, "Loss of ¹²³I-MIBG uptake of heart in Parkinson's disease: assessment of cardiac sympathetic denervation and diagnostic value," J. Nucl. Med. **40**, 371-375 (1999).
10. T. J. Mangner, J. Wuo, D.m. Wiwland, "Solid -phase exchange radioiodination of aryl iodides. Facilitation by ammonium sulfate," J. Org. Chem. **47**, 1484-1488 (1992).
11. Lambrecht, "An efficient batch preparation of high specific activity of ¹²³I and ¹²⁴I-MIBG," Appl. Radio. Iso. **54**, 711-714 (2001).
12. R. F. Verbruggen, "Fast high-Yield labeling and quality control of ¹²³I -and ¹³¹I-MIBG," Appl. Radio. Iso. **44**, 621-628 (1993).
13. J. Mertens and W. Vanryckeghen, "New fast preparation of ¹²³I labeled radiopharmaceuticals," Eu. J. Nucl. Med. **13**, 380-381 (1987).
14. J. Mertens and W. Vanryckeghen, "Fast kit labeling: New future for pure¹²³I labeled radiopharmaceuticals," Eur. J. Nucl. Med. **11**, A59 (1985).
15. J. Mertens and W. Vanryckeghen, "Cu(I) supported isotopic exchange of arylbound iodide," New future for the Second European Symposium of Radiopharmaceuticals Cpomponds, Cambrige. (1985).
16. A. R. Wafelman, M. C. P. Konings, J. H. Beijnen, "Santesis radiolabeling and stability of radioiodinated m-iodobenzoguanidine,a rewic," Appl. Radio. Iso. **45**, No. 10, 997-1007 (1994).