



## تولید و کنترل کیفی رادیوداروی $^{111}\text{In}$ پنتروتاید در ایران

سید یوسف فضائلی حسینی نژاد\*، مصطفی عرفانی

پژوهشکده‌ی کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۱۱۳۶۵-۳۴۸۶، تهران - ایران

**چکیده:** رادیوداروی  $^{111}\text{In}$  - پنتروتاید (اُکترواسکن) هم‌اکنون به صورت گسترده در تشخیص انواع سرطان‌ها در علم پزشکی کاربرد دارد. اکتروتاید دارویی با ساختاری مشابه سوماتواستاتین است که در حالت نشاندار شده با هسته‌ی پرتوزای  $^{111}\text{In}$  به صورت وریدی تزریق می‌شود. این رادیودارو با اتصال به گیرنده‌های سوماتواستاتین به شکل یک عامل ترانوسیتیک عمل می‌کند. در دهه‌ی اخیر  $^{111}\text{In}$  پنتروتاید به عنوان داروی تشخیص سینتیگرافی و تعیین پیشرفت تومورهای اولیه و متاستاتیک نورواندوکراین بیش‌ترین مصرف را داشته است. در این مطالعه، کاربردهای این رادیودارو به همراه استراتژی‌های تولید و کنترل کیفی به طور دقیق بررسی شد. به طور خلاصه، بهره‌ی نشاندارسازی  $^{111}\text{In}$  - پنتروتاید قبل از استفاده بر روی حیوانات جوندگی محاسبه شد. اتصال هسته‌ی پرتوزای با تکنیک RTLC و خلوص رادیوشیمیایی با تکنیک HPLC اندازه‌گیری شد. به سبب بالا بودن ثابت پایداری ترمودینامیکی DTPA و  $\text{In}^{3+}$ ، بهره‌ی تشکیل  $^{111}\text{In}$  - پنتروتاید تحت شرایط به کار رفته در این پژوهش بالا بود.

**کلیدواژه‌ها:**  $^{111}\text{In}$ ؛ پنتروتاید، سوماتواستاتین، عامل ترانوسیتیک، تومورهای نورواندوکراین

## Production and Quality Control of Indium-111 Pentetreotide Radiopharmaceutical in Iran

S.Y. Fazaeli Hoseini Nezhad\*, M. Erfani

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

**Abstract:**  $^{111}\text{In}$  pentetreotide (OctreoScan<sup>TM</sup>) radiopharmaceutical is used extensively for the detection of a variety of cancers in medicine. Octerotide is a pharmaceutical with a structure similar to somatostatin which is administered via intravenous injection in an  $^{111}\text{In}$  labeled form. This radiopharmaceutical acts as a theranostic agent with binding to somatostatin receptors. Over the last decade,  $^{111}\text{In}$  pentetreotide has remained the most widely used radiopharmaceutical for the scintigraphic detection and staging of primary and metastatic neuroendocrine tumors. In this study, application of this radiopharmaceutical as well as the production and quality control strategies was investigated precisely. Briefly, the labeling yield of  $^{111}\text{In}$  pentetreotide was determined before the administration to the rodents. The incorporation of the radionuclide was measured by RTLC and the radiochemical purity was measured by HPLC. Due to the high thermodynamic stability constants for DTPA and  $\text{In}^{3+}$ , the formation yield of  $^{111}\text{In}$  pentetreotide under the terms applied in this study was found to be high.

**Keywords:**  $^{111}\text{In}$  Pentetreotide, Somatostatin, Theranostic Agent, Neuroendocrine Tumors



## ۱. مقدمه

سوماتواستاتین هورمون پپتیدی کوچک تشکیل شده از ۱۴ آمینواسید است که در پانکراس و هیپوتالاموس تولید می‌شود. عمل هورمونی آن شامل مهار آزادسازی هورمون رشد، انسولین، گلوکاگون و گاسترین است. گیرنده‌های سوماتواستاتین گلیکوپروتئین‌های غشائی هستند که در بافت‌های متنوع بدن توزیع شده‌اند. گیرنده‌های سوماتواستاتین در بسیاری از سلول‌های غدد درون‌ریز عصبی مانند سلول‌های سوماتوتروف غده هیپوفیز قدامی و سلول‌های جزیره‌ای پانکراسی یافت می‌شوند. سلول‌هایی مانند لنفوسیت‌ها که به عنوان غده‌ی درون‌ریز عصبی در نظر گرفته نمی‌شوند، نیز ممکن است شاهد حضور این گیرنده‌ها باشند. این گیرنده‌ها در بسیاری از تومورهای مربوط به غدد درون‌ریز از قبیل آپودوماس شناسایی شده‌اند. این نوپلاسم‌ها (سلول‌های سرطانی تازه تشکیل یافته) قابلیت سنتز آمین‌ها و پلی‌پپتیدها را به واسطه‌ی جذب پیش‌ماده آمینی و فعالیت دکربوکسیلاسیون دارند [۱]. اکتروتاید یک آنالوگ سوماتواستاتین بوده که شامل هشت آمینواسید است.  $^{111}\text{In}$  با استفاده از DTPA به اکتروتاید شلاته شد و منجر به تشکیل رادیودارویی شد که  $^{111}\text{In}$  پنتروتاید (اکترواسکن) نامیده می‌شود [۲]. تنها در مرکز بین‌المللی Rita Foundation از بدو تأسیس تاکنون بیش از ۱۰۰ بیمار که با روش‌های شیمی درمانی و استفاده‌ی از پپتید تراپی سرد درمان نشده بودند، با این رادیودارو درمان شده‌اند. این گونه، فعال‌تر از هورمون‌های درون بدن است و نسبت به حمله‌ی آنزیم مقاوم است. شش نوع گیرنده سوماتواستاتین موجود است که فقط نوع ۲ و ۵ به پنتروتاید متصل می‌شود [۲، ۳]. نشان داده شده است که پنتروتاید به گیرنده‌های سوماتواستاتین در سراسر بدن در مکان‌های توموری و غیرتوموری متصل می‌شود. به دلیل این که ۸۰٪ تومورهای نورواندوکراین پانکراسی گیرنده‌های نوع ۲ را بیان می‌کنند، عمده‌ی تومورهای نورواندوکراین شکمی پاسخ مثبت به اکترواسکن می‌دهند [۲]. بعد از ورود به داخل سلول از طریق سیستم گیرنده‌های سوماتواستاتین، این گونه به متابولیت نشاندار شده‌ی نهایی،  $^{111}\text{In-DTPA-D-Phe}$  در لیزوزوم‌ها تبدیل

می‌شود [۴]. این متابولیت قادر به عبور از میان لیزوزوم و دیگر غشاهای سلولی نیست و در درون سلول خواهد ماند. گونه‌ی مورد نظر سپس به محیط پیش‌هسته‌ای و سپس به داخل هسته جابه‌جا می‌شود [۵]. پنتروتاید ۸۴ تا ۹۱٪ از تومورهای نورواندوکراین را شناسایی می‌کند و در شناسایی تومورهای نورواندوکراین پانکراسی بهتر از MIBG عمل می‌کند [۶]. تصویربرداری در بیش‌تر بیماران با تومورهای نورواندوکراین [۱]، و در بیماران با لیمفوما<sup>(۱)</sup>، گرانولوماتوس<sup>(۲)</sup>، یا بیماری‌هایی که لنفوسیت‌های فعال در آن نقش بازی می‌کنند (از قبیل بیماری گریوز) موفق بوده است. نتایج اسکن‌های  $^{111}\text{In}$  پنتروتاید تا تشخیص نهایی ۸۶٪ از بیماران پایدار بود. در مقایسه با کارسینوئیدها (آشکارسازی ۹۶٪) و گاسترینوما، میزان موفقیت کم‌تری برای اینسولینوما، نوروبلاستوما<sup>(۳)</sup>، ورم غده‌ای هیپوفیز<sup>(۴)</sup>، و کارسینومای تیروئیدی<sup>(۵)</sup> نخاعی به دست آمده است. حساسیت آشکارسازی متاستاز کبد در بیماران دارای تومورهای نورواندوکراین پانکراسی تا سطح ۹۲٪ گزارش شده است [۷]. آزمایش‌های کلینیکی برای ارزیابی استفاده از دزهای بالای  $^{111}\text{In-DTPA}$  اکتروتاید (۵،۵ تا ۷،۴ GBq) برای کاربردهای درمانی ممکن به منظور درمان نوپلاسم‌های نورواندوکراین انجام شده‌اند [۴].  $^{111}\text{In}$  پنتروتاید با دز بالا می‌تواند برای معالجه‌ی بیماران با تومورهای نورواندوکراین پخش شده استفاده شود [۸].  $^{111}\text{In}$  یک الکترون اوژه با انرژی کم‌تر از ۳۰ keV با گستره‌ی در حدود ۸۰ تا ۲۰۰ nm و یک الکترون تبدیل درونی را با گستره‌ی ۲۰۰ تا ۵۰۰  $\mu\text{m}$  تولید می‌کند. این گسیل‌ها هنگامی که گونه‌ی واکنش‌کننده به سیتوپلاسم سلول‌ها وارد می‌شود و به ویژه هنگامی که نزدیک هسته‌ی سلول باشد می‌تواند اثر ضد توموری داشته باشند [۸، ۹]. دز تزریقی معمولاً حدود ۸،۱۴ GBq (محتوی تقریباً ۳۰  $\mu\text{g}$  از پنتروتاید) برای یک فرد با وزن ۷۰ kg است [۸]. این رادیودارو در تشخیص و درمان سرطان‌های سینه، کارسینومای برونشونیک<sup>(۶)</sup> [۱، ۳]، تومورهای کارسینوئید [۱۰]، تومورهای پاراگانگلیوما [۱۱-۱۴]، تومورگلوبوس<sup>(۷)</sup>، سرطان‌های (نوپلاسم)<sup>(۸)</sup> CNS [۱۵، ۱۶] و لنفوما (غده مرکب از بافت لنفاوی)<sup>(۹)</sup> [۱۷] نیز استفاده می‌شود.

## ۲. مواد و روش‌ها



آزاد است در شمارنده‌ی چاهی قرار داده، و پرتوزایی آن ثبت شد. ویال شماره‌ی دو که حاوی  $^{111}\text{In}$  پنتروتاید است شمارش شد. نهایتاً میزان پرتوزایی کارتریج شمارش شد. درصد میزان نشاندارسازی از رابطه‌ی زیر به دست می‌آید:

$$\text{پرتوزایی ویال شماره دو} = \frac{\text{پرتوزایی کل}}{\text{درصد رادیوداروی ایندیم}} \times 100$$

پرتوزایی ویال شماره‌ی یک + پرتوزایی ویال شماره‌ی دو + پرتوزایی کارتریج = پرتوزایی کل در راستای اندازه‌گیری دقیق میزان پرتوزایی نشاندار شده و از بین بردن خطای حاصل از باقی‌ماندن فیزیکی رادیودارو در کارتریج، از تکنیک کروماتوگرافی لایه‌ی نازک پرتوزا (RTLC) با سیرتات سدیم  $0.1 \text{ M}$  با  $\text{pH}$  برابر ۵ در فاز متحرک و کاغذ سیلیکا در فاز ثابت استفاده شد. در ادامه، به منظور

اندازه‌گیری خلوص رادیوشیمیایی محصول از آنالیز HPLC استفاده شد. آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا<sup>(۱۰)</sup> برای تعیین فعالیت ویژه با استفاده از دستگاه Shimadzu LC-10AT مجهز به آشکارساز دارای آنالیزور جریان برق از نوع Packard-150 TR و با استفاده از ستون واتمن (Whatman Partisphere C-18 column 100×4.6 mm) انجام شد. پس از تعیین میزان درصد خلوص شیمیایی، با استفاده از ویال تست آپروژن (LAL کیت، Limulus amebocyte lysate)، عدم حضور آندوتوکسین یا LPS در رادیودارو بررسی شد. پس از تزریق  $200 \mu\text{l}$  از رادیوداروی نهایی به ویال تست و قرار دادن آن در دمای  $37^\circ\text{C}$  به مدت  $45 \text{ min}$ ، محلول داخل ویال به فرم ژل در نیامد و جواب تست منفی شد. پس از اطمینان از صحت رادیودارو، آزمایش‌های حیوانی با استفاده از موش‌های صحرایی به منظور اطمینان از اثربخشی این رادیودارو صورت گرفت. به این منظور درصد میزان پرتوزایی در ۱۲ ارگان حیاتی بدن ۲، ۴ و ۲۴ h پس از تزریق اندازه‌گیری و نیز تصویربرداری Planar صورت گرفت. تمامی محاسبات و تصویربرداری‌ها با حیوانات شاهد که به آن‌ها دز برابر از کلرید  $^{111}\text{In}$  تزریق شده بود مقایسه شد. پراکنش زیستی ترکیب نشاندار در بافت‌های حیاتی موش صحرایی وحشی بلافاصله بعد از تصویربرداری انجام گرفت. مقدار پرتوزایی تزریق شده به هر موش با اندازه‌گیری یک سرنگ  $1 \text{ ml}$  با استفاده از یک کالیبراتور دز با هندسه‌ی ثابت انجام شد ( $1.85 \text{ kBq}$  به هر حیوان تزریق شد). حیوانات به روش

نشاندارسازی DTPA-D-Phe-اکروتاید با  $^{111}\text{In}$  به صورت تک‌ظرف انجام، و مطالعات کنترل کیفی و زیستی بلافاصله پس از تولید انجام شد. ابتدا مقدار  $5.18 \text{ GBq}$  هسته‌ی پرتوزا به ظرف واکنش (بالن  $5 \text{ ml}$  روداردار) انتقال یافت. ظرف واکنش تحت اتمسفر نیتروژن برای خشک کردن محلول و خروج HCl در مدت زمان تقریبی  $30 \text{ min}$  حرارت داده شد. سپس  $1 \text{ ml}$  بافر استات  $0.4 \text{ M}$  با  $\text{pH}$   $4.5$  و مقدار  $424 \mu\text{g}$  از پپتید در  $100 \mu\text{l}$  از بافر استات  $0.4 \text{ M}$  با  $\text{pH}$   $4.5$  به ظرف واکنش اضافه شد (نکته: در طراحی این واکنش،  $100 \mu\text{l}$  از بافر استات  $0.4 \text{ M}$  با  $\text{pH}$   $4.5$  در سایر نسبت‌ها نیز ثابت است). به این منظور، ابتدا به ظرف حاوی  $1 \text{ mg}$  از پپتید،  $235.8 \mu\text{l}$  از بافر افزوده و خوب به هم زده شود، سپس مقدار  $100 \mu\text{l}$  از آن مصرف، و باقی‌مانده در دمای  $2$  تا  $8^\circ\text{C}$  نگهداری شود. هم زدن محلول به مدت  $30 \text{ min}$  در دمای محیط انجام شد. محلول استاندارد اسید جنتیسیک (اسید  $3.2$  دی هیدروکسی بنزوئیک) با مولاریته  $0.26 \text{ M}$  تهیه شد. برای این کار مقدار  $40 \text{ mg}$  از اسید جنتیسیک در  $1 \text{ ml}$  بافر استات  $0.4 \text{ M}$  با  $\text{pH}$   $4.5$  همراه با حرارت ملایم حل شد. در ادامه  $100 \mu\text{l}$  از محلول استاندارد اسید جنتیسیک  $0.26 \text{ M}$  (معادل  $4 \text{ mg}$ ) پس از  $30 \text{ min}$  از اضافه نمودن پپتید، به ظرف واکنش افزوده شد. در نهایت با اضافه نمودن  $1 \text{ ml}$  نرمال سالین  $0.09\%$  استریل به محلول و عبور از صافی  $0.22$  میکرون، رادیودارو با غلظت میزان پرتوزایی  $2.35 \text{ GBq/ml}$  تهیه شد. بهره‌ی نشاندارسازی (میزان وارد شدن هسته‌ی پرتوزا به لیگاند) با آنالیز کروماتوگرافی لایه‌ی نازک پرتوزا و روش استفاده از کارتریج C-18 (Sep-Pak Cartridge) تعیین شد. در این پژوهش، پس از انجام مراحل نشاندارسازی  $0.05 \text{ ml}$  از محلول نهایی به کارتریج تزریق شد (کارتریج قبل از استفاده با  $10 \text{ ml}$  متانول آماده، و سپس به وسیله‌ی  $10 \text{ ml}$  آب شسته شده است). پس از تزریق ماده‌ی پرتوزا و عبور آرام آن در ستون، و شستشوی آن با  $5 \text{ ml}$  آب، محلول اول درون یک ویال جمع‌آوری شد. سپس با استفاده از  $5 \text{ ml}$  متانول مجدداً کارتریج شسته، و در ویال شماره دو جمع‌آوری شد. در ادامه، به منظور اطمینان از خروج کامل رادیودارو، کارتریج با حجم  $5 \text{ ml}$  از هوا در ویال شماره دو تخلیه شد. ویال شماره‌ی یک که حاوی هسته‌ی پرتوزای  $^{111}\text{In}$



ممکن نیست [۱۹، ۲۵]. توجه آن افینتهی بالای گیرنده و بیان با ظرفیت کم<sup>(۱۱)</sup> است. جذب به دو عامل متضاد وابسته است؛ (۱) اثر منفی میزان استفادهی بالا از لیگاند که منجر به اشباع شدن گیرندهها

می شود. (۲) اثر مثبت غلظت بالا بر مبنای سازوکار داخل شدن القائی لیگاند<sup>(۱۲)</sup> استوار است [۱۹]. این دو اثر متضاد، بهینه کردن مقدار دز تجویزی پتید و به دنبال آن مقدار پتید استفاده شده در نشاندارسازی را مشخص می کند [۲۵-۲۹]. نکتهی سوم باقی مانده که با دو اصل اول (بهینه سازی مقدار دز تجویزی پتید) در تضاد است، میزان رادیوداروی مورد نیاز برای تصویربرداری بهینه است. در تصویربرداری با تکنیک PRS هرچه مقدار رادیوداروی تجویزی بالاتر باشد میزان حساسیت دستگاه بهتر، و تصویر با کیفیت تری ارائه می شود [۳۰]. مطالعات نشان داده است، افزایش دز تزریقی سبب کاهش اثر سازوکار اندوسیتوز در جذب سلولی پتیدها می شود [۳۱]. یکی از مزایای هسته ی پرتوزای  $^{111}\text{In}$ ، بدون حامل بودن آن و در نتیجه پرتوزایی ویژهی بالای آن و مصرف کم تر لیگاند در مقایسه با هسته های پرتوزای تولید شده در راکتور است (جدول ۱).

یکی از نقاط ضعف شلاتورهای DOTA، نیاز آن ها به فرایند حرارت دادن است که اپراتورها را در مراکز پزشکی با مشکل مواجه، و استفاده از آن را به صورت کیت، سخت می کند. از دیگر مزایای استفاده از شلاتور DTPA، عدم نیاز به حرارت در فرایند نشاندارسازی است و این فرایند در دمای محیط به راحتی انجام می شود [۳۲، ۳۳]. در این راستا دمای انجام واکنش دمای محیط انتخاب شد و نشاندارسازی با درصد بالای ۹۵٪ در دمای محیط گزارش شد. شایان ذکر است دمای  $85^{\circ}\text{C}$  سبب افزایش بهره ی نشاندارسازی تا ۹۸٪ می شود، که به طور کامل در قسمت کنترل کیفی به آن پرداخته می شود. نکتهی قابل توجه در نشاندارسازی پتیدها، میزان ناخالصی هسته ی پرتوزا مورد استفاده است. مطالعات نشان داده است یون کادمیم به شدت با یون ایندیم در تشکیل پیوند در رقابت است، بنابراین در این پژوهش خالص سازی مجدد این هسته ی پرتوزا انجام شد [۳۴]. در بهره ی فرایند نشاندارسازی با شلاتورها، سه عامل حلالیت رادیو متال، اسیدیته و دما مؤثرند. این سه عامل خود با یکدیگر ارتباط منطقی دارند و باید بهینه شوند. به عنوان مثال، بهره ی کمپلکس شدن DTPA با فلز با افزایش اسیدیته (pH)

خفگی در محیط پر از دی اتیل اتر قربانی شدند. بافت های خون، قلب، شش، مغز، روده، پوست، معده، کلیه، کبد، ماهیچه و استخوان ابتدا با نرمال سالین شسته و وزن شدند و پرتوزایی ویژه با استفاده از آشکارساز فوق خالص ژرمانیم (HPGe) که مجهز به نگه دارنده ی نمونه بود به شکل دز تزریقی در هر گرم از بافت گزارش شد. تصاویر با دوربین گاما (Dual-Head SPECT) ثبت شد. بهترین عرصه ی دید (UFOV) اندازه ی  $540\text{mm} \times 400\text{mm}$  است.

### ۳. یافته ها و بحث

#### ۱.۳ عوامل مؤثر بر نشاندارسازی

پتیدهای  $^{111}\text{In}$  متصل به DTPA (-DTPA- $^{111}\text{In}$  peptides) هم چون پنتروتاید در تکنیک PRS دارای ارزش بالایی هستند. زیرا در مقایسه با پتیدهای متصل به  $^{177}\text{Lu}$  و  $^{90}\text{Y}$ ، پایداری

درون تنی بیش تری دارند. شایان ذکر است به منظور رفع این نقص، پتیدهای متصل به  $^{177}\text{Lu}$  و  $^{90}\text{Y}$  با شلاتورهای نظیر DOTAtate، DOTANOC، DOTATOC، DOTA نشاندار شده اند. در حالی که در مورد  $^{111}\text{In}$  نیازی به این کار نیست و این رادیودارو کماکان با شلاتور DTPA نشاندار می شود [۱۸-۲۰]. در مورد معایب و مزایای شلاتورهای ذکر شده مطالعات مقایسه ای دقیق انجام شده است [۲۱-۲۴]. جنبه های مختلفی بر واکنش بین گیرنده و رادیو لیگاند تأثیر می گذارند. شلاتور DOTA با  $^{177}\text{Lu}$  و  $^{90}\text{Y}$  کمپلکس های ترمودینامیکی و سینتیکی پایدارتر تشکیل می دهد. به علاوه از آنجایی که در DOTATOC، اسید آمینه ی سوم از فنیل آلانین ( $\text{Phe}^3$ ) به تیروزین ( $\text{Tyr}^3$ ) تغییر کرده است، بنابراین قدرت افینتهی تشکیل پیوند به مراتب بالاتر می رود. به همین دلیل DOTATOC با نام DOTA-Tyr<sup>3</sup>-OCT نیز شناخته می شود. در شلاتور DOTAtate، الکل انتهایی اکتروتاید جای خود را به گروه عاملی کربوکسیلیک اسید داده تا منجر به افزایش افینتهی، رادیو لیگاند به گیرنده ی ساب تایپ ۲ شود. مطالعات نشان داده است افزایش پرتوزایی ویژه، سبب جذب کم تر رادیو لیگاند در تومورهای گیرنده ی مثبت می شود و لزوماً نقطه ی بهینه ی بالاترین جذب، بالاترین پرتوزایی استفاده شده ی



رادیودارو انجام می‌شود. انتخاب اسیدیتته در این پروژه در بازه‌ی ۴ تا ۴٫۵ بر پایه‌ی مطالعات انجام شده در این حوزه صورت گرفت [۳، ۳۵].

افزایش می‌یابد ولی در سوی دیگر افزایش اسیدیتته، حلالیت یون ایندیم را کاهش می‌دهد و در فرایند نشاندارسازی اخلاص ایجاد می‌کند. از این‌رو، افزایش اسیدیتته در مرحله‌ی پایانی تولید

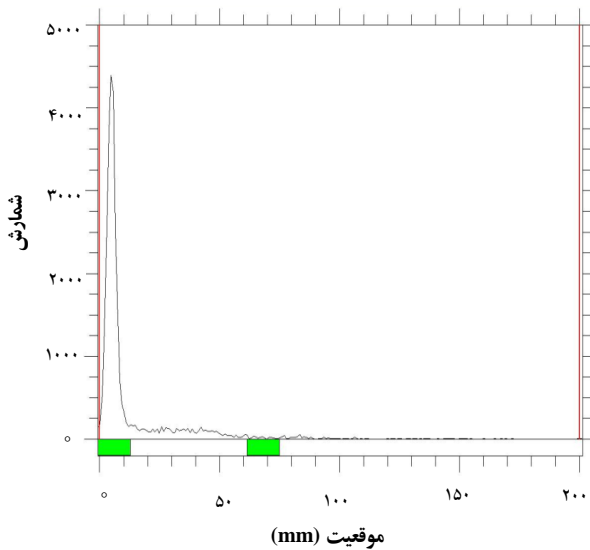
**جدول ۱.** مقادیر پرتوزایی ویژه‌ی تئوری و اطلاعات فیزیکی رادیوداروی ایندیم پنتروتاید

در حالت نظری بیشینه مقدار تابش‌دهی ویژه	در حالت تئوری بیشینه مقدار تابش‌دهی ویژه	n مول فلز بر گیگا بکرل	$t^{(۱/۲)}$ (روز)	محصول واپاشی	هدف/والد	روش تولید
۱٫۷	۱٫۷۲*	۰٫۵۸	۲٫۸۱	$^{۱۱۳}\text{Cd}$	$^{۱۱۳}\text{Cd}$	شتاب‌دهنده‌ی (p و ۲n)
گیگا بکرل بر n مول پیپتید - DTPA						

در تئوری ۱ نانومول از پیپتید می‌تواند با نسبت یک به یک به یک نانومول از هسته‌ی پرتوزا متصل شود و کمپلکس بدهد.

از رادیودارو در ۴h پس از تزریق از بدن خارج می‌شود و محتوای پرتوزایی پس از ۲h از تزریق در کلیه‌ها بالاست.

تصویربرداری  $^{۱۱۳}\text{In}$ -DTPA-OCT از موش‌های صحرائی وحشی، تجمع مولکول ردیاب نشاندار را در ناحیه‌ی کلیه‌ها در تمام مدت بعد از تزریق نشان می‌دهد. در حالی که اسکن  $^{۱۱۳}\text{In}$  آزاد، پرتوزایی بالایی را در سینه و شکم دارد و تا ۴۸h در بدن موش باقی می‌ماند. با مقایسه‌ی تصاویر مربوط به رادیودارو با نمونه‌های مشابه انسانی و نمونه‌ی شاهد (کلرید ایندیم)، عملکرد این رادیودارو نیز تأیید شد (شکل ۶، ۷).



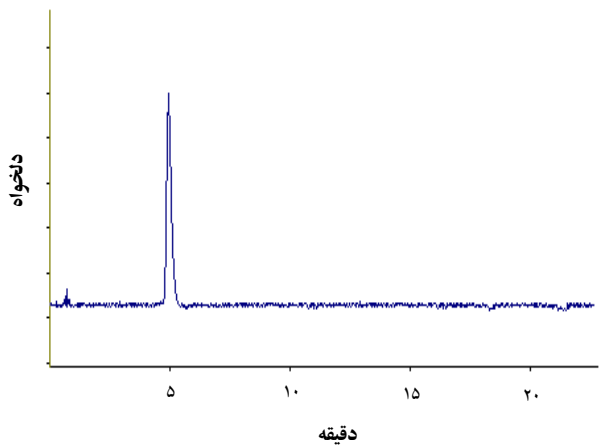
**شکل ۱.** کروماتوگرام RTLC رادیوداروی  $^{۱۱۳}\text{In}$  پنتروتاید.

### ۲.۳ کنترل کیفی

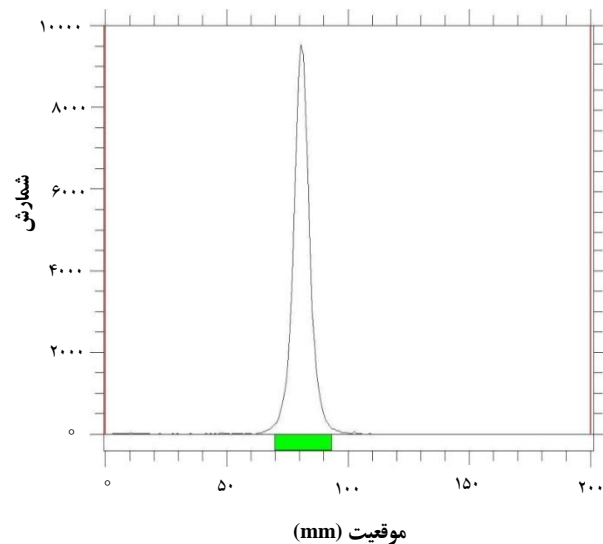
براساس دو استاندارد بین‌المللی ثبت شده در ایالات متحده آمریکا، نشاندارسازی مورد قبول برای استفاده‌ی انسانی این رادیودارو باید بالای ۹۰٪ باشد. درصد نشاندارسازی در این پژوهش با روش کارتریج میزان ۹۶٫۲٪ حاصل شد. بهره‌ی نشاندارسازی با استفاده از تکنیک RTLC بررسی شد. تحت شرایط به کار رفته در آزمایش، سیترات ایندیم حاصل از کمپلکس شدن کلرید ایندیم همراه با حلال مهاجرت کرد (شکل ۱) و  $^{۱۱۳}\text{In}$  متصل شده به پیپتید در مبدأ باقی ماند (شکل ۲). بهره‌ی نشاندارسازی در این روش میزان حداقلی ۹۸٪ به دست آمد.

همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در تکنیک HPLC، با استفاده از حلال آب TFA ۰٫۱٪ (تا دقیقه‌ی دوم) و حلال استونیتریل (در ادامه) قله‌های مربوط به  $^{۱۱۳}\text{In}$  کلرید در ۰٫۸۵ min، و قله‌ی رادیودارو در ۵٫۲۵ min ظاهر شد. آنالیز HPLC نیز خلوص ۹۸٪ رادیودارو را تأیید کرد.

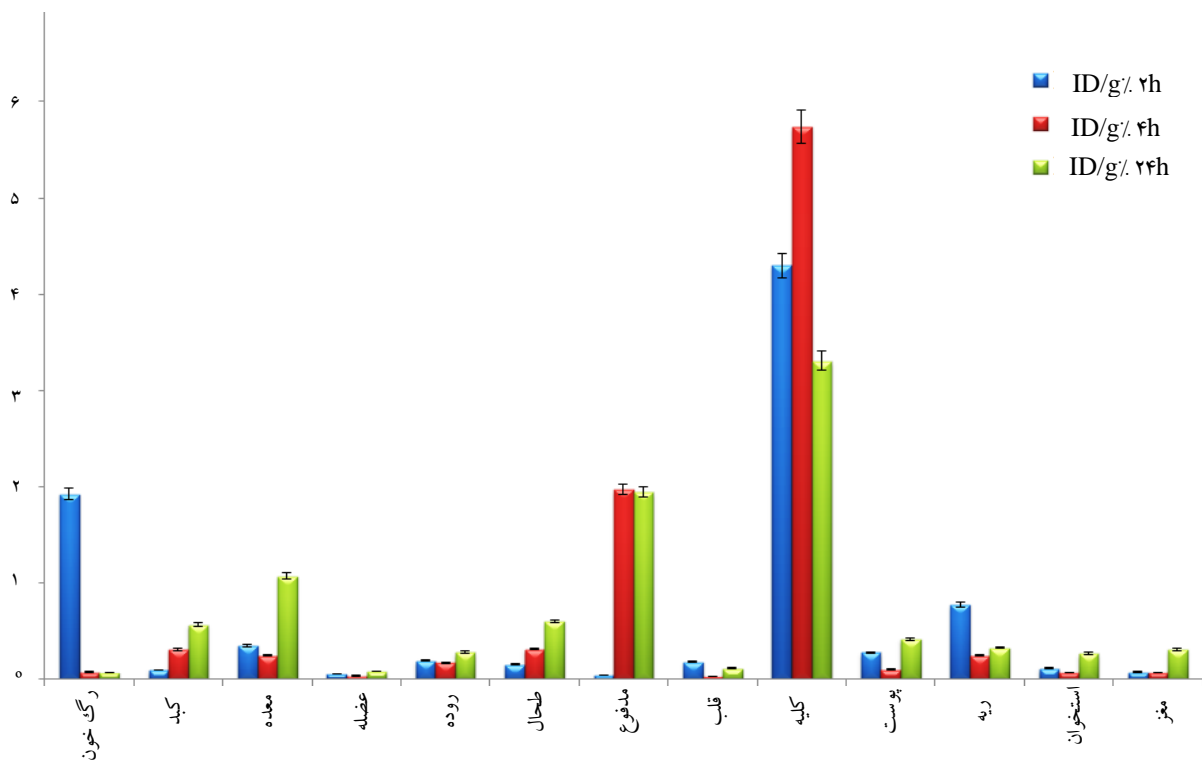
همان‌طور که در شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است، کاتیون ایندیم عمدتاً رفتار مشابه با کاتیون آهن را نشان می‌دهد و به سرعت از طریق گردش خون حذف و در کبد جمع، و قسمت عمده‌ی آن مشابه کاتیون محلول در آب از طریق کلیه دفع می‌شود. پراکنش زیستی ترکیب نشاندار در شکل ۶ نشان داده شده است. به دلیل ماهیت پیپتیدی و حلالیت آن در آب به صورت کمپلکس یونی، بیش‌ترین پرتوزایی ۲، ۴ و ۲۴h بعد از تزریق در کلیه، و بیش‌ترین راه دفع از طریق ادرار بعد از ۶h است. نکته‌ی مهم، نیمه‌عمر بیولوژیکی ۶h این رادیودارو است و به این‌گونه بهترین زمان تصویربرداری ۶h اول پس از تزریق خواهد بود. همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود تقریباً ۴۰٪



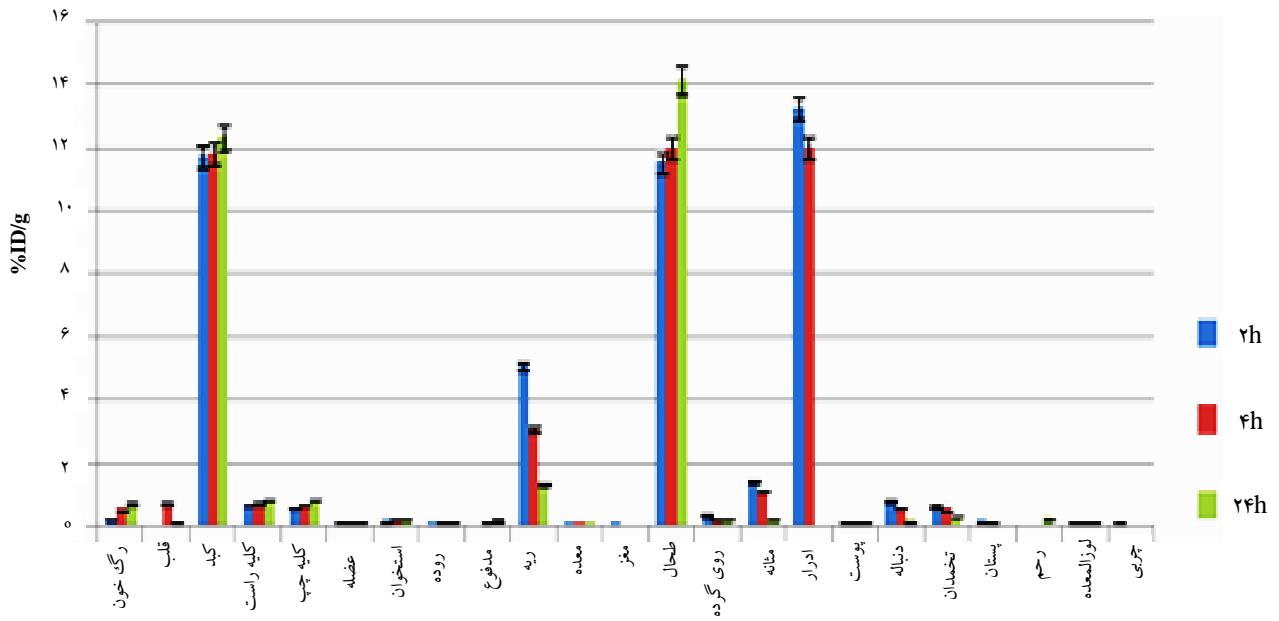
شکل ۳. کروماتوگرام HPLC رادیوداروی  $^{111}\text{In}$  پنتتروتاید.



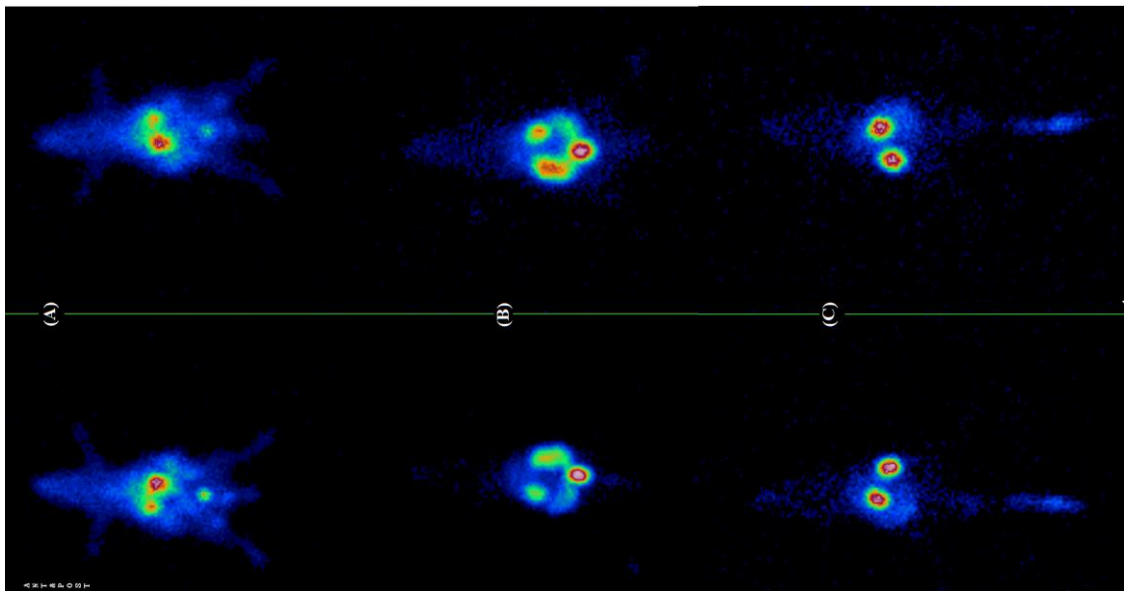
شکل ۲. کروماتوگرام RTLC کلرید  $^{111}\text{In}$ .



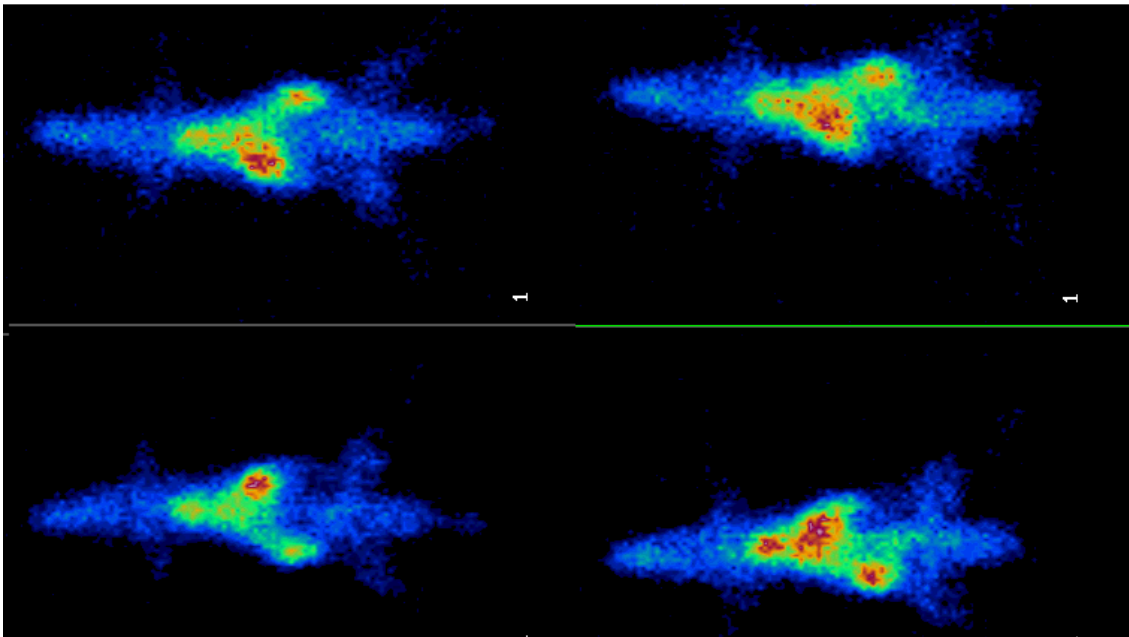
شکل ۴. پراکنش زیستی  $^{111}\text{In}$ -DTPA-OCT (۱,۸۵MBq) در موش‌های صحرایی وحشی ۲، ۴، ۲۴h پس از تزریق از راه ورید دمی (ID/g): درصد دوز تزریق شده در هر گرم بافت.



شکل ۵. پراکنش زیستی  $[^{111}\text{In}]\text{In-Cl}_3$  (۱,۸۵MBq) در موش‌های صحرایی وحشی ۲، ۴، ۲۴h پس از تزریق از راه ورید دمی (%ID/g): درصد دز تزریق شده در هر گرم بافت).



شکل ۶. تصاویر Planar، رادیوداروی  $[^{111}\text{In}]\text{In-DTPA-OCT}$  در موش‌های وحشی ۲ (A)، ۴ (B) و ۲۴ (C) پس از تزریق.



شکل ۷. تصاویر Planar،  $^{111}\text{In}$ Cl<sub>3</sub> در موش‌های وحشی ۲ ساعت (چپ) و ۴ ساعت (راست) پس از تزریق.

#### ۴. نتیجه‌گیری

رادیوداروی  $^{111}\text{In}$  اکتروتاید و مشتق غیرپپتیدی آن ایندیوم-دی تی‌پی‌ای تنها رادیوداروهای تأیید شده‌ی FDA هستند و این پژوهش امکان نشاندارسازی هر دوی آن‌ها را در کشور محقق ساخته، و توجهی بر تهیه‌ی رادیویزوتوپ  $^{111}\text{In}$  در سیکلوترون در فاز عملی تولید و استفاده انسانی از آن است. نیمه‌عمر بالای این رادیودارو انتقال به مراکز هسته‌ای در داخل و صادرات آن به خارج از کشور را ممکن می‌سازد. این رادیودارو با داشتن استانداردهای بین‌المللی، نگرانی‌ها در مورد استفاده‌ی انسانی را برطرف کرده است. تمامی استانداردهای کنترل کیفی در مورد رادیودارو بر پایه‌ی داده‌های شرکت‌های بزرگ رادیودارویی هم‌چون ماینکرات کانادا در این پژوهش انجام و ارزیابی شد. خلوص حداقلی ۹۶٪ برای این رادیو در این پژوهش مشاهده شد. از دیگر مزایای استفاده از شلاتور DTPA، عدم نیاز به حرارت در فرایند نشاندارسازی است که در دمای محیط به راحتی انجام می‌شود. این قابلیت در قیاس با سایر رادیوداروهای پپتیدی، تهیه‌ی این رادیودارو را در مراکز درمانی با استفاده از کیت نیز ممکن ساخته است و هزینه‌ی سربار چند صد هزار دلاری خرید ماژول نشاندارسازی برای آن مراکز را منتفی می‌کند. یکی دیگر از مزایای هسته‌ی پرتوزای  $^{111}\text{In}$ ، بدون حامل بودن آن و در نتیجه پرتوزایی ویژه‌ی بالای آن و مصرف کم‌تر لیگاند در مقایسه با هسته‌ی پرتوزای تولید شده در راکتور است که هزینه‌ی

نشاندارسازی را بسیار پایین می‌آورد و خلوص نهایی رادیودارو را بهبود می‌بخشد. مقدار  $5.18\text{GBq}$  از این رادیودارو با دستورالعمل ارائه شده در این گزارش تهیه، و هر دو جنبه‌ی استفاده (تشخیص و درمان) در این دستورالعمل در نظر گرفته شد. در این دستورالعمل، امکان تهیه‌ی رادیودارو در مقادیر بالاتر نیز فراهم شده است. در این گزارش علمی، با آزمایش‌های RTLC و HPLC درصد نشاندارسازی به میزان حداقل ۹۶٫۲٪ به دست آمد که این میزان ۶٪ بالاتر از استاندارد مورد نیاز به منظور استفاده‌ی انسانی از این رادیودارو است. پس از اطمینان از درستی فرمولاسیون و خلوص رادیودارو، برای اطمینان از اثربخشی این رادیودارو، آزمایش‌های حیوانی با استفاده از موش-های صحرایی صورت گرفت و با مقایسه‌ی تصاویر مربوط به رادیودارو نمونه‌های مشابه انسانی و نمونه‌ی شاهد (کلرید ایندیم)، عملکرد این رادیودارو نیز تأیید شد.

با توجه به روند سریع و روبه رشد استفاده از این روش‌ها در تشخیص و درمان سرطان و امکانات موجود پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای برای تولید انبوه این رادیودارو، امید است اطلاعات ارائه شده در این طرح پژوهشی مورد استفاده‌ی دانشمندان حوزه تولید رادیوداروها قرار گیرند.

#### تشکر و قدردانی





این پژوهش از طرف پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران حمایت مالی شده است. هم‌چنین نویسندگان از کلیه همکاران پژوهشکده‌ی کاربرد پرتوها که از کمک‌های خود دریغ نرزیده‌اند، کمال تشکر را دارند.

### پی‌نوشت‌ها

1. Lymphomas
2. Granulomatous
3. Neuroblastomas
4. Pituitary Adenomas
5. Thyroid Carcinoma
6. Bronchogenic Carcinoma
7. Glomus Tumor
8. Neoplasms
9. Lymphoma
10. High Performance Liquid Chromatography
11. Expressing at Low Capacity
12. Clustering Internalization by Ligand-Induced Receptor

### مراجع

- [1] E.P. Krenning, J. Kwekkeboom, W.H. Bakker, W.A.P. Breeman, P.P.M. Kooij, H.Y. Oei, M. Van Hagen, P.T.E. Postema, M. de Jong, J.C. Reubi, T.J. Visser, A.E.M. Reijs, L.J. Hofland, J.W. Koper, S.W.J. Lamberts, Somatostatin receptor scintigraphy with [ $^{111}\text{In}$ -DTPA-D-Phe1]- and [ $^{123}\text{I}$ -Tyr3]-octreotide: the Rotterdam experience with more than 1000 patients. *Eur. J. Nucl. Med.* **20** (1993) 716-731.
- [2] C.M. Intenzo, S. Jabbour, H.C. Lin, J.L. Miller, S.M. Kim, D.M. Capuzzi, Scintigraphic imaging of body neuroendocrine tumors, *Radiographics.* **27** (2007) 1355-1369.
- [3] I. Reisinger, KH. Bohuslavitzki, W. Brenner, S. Braune, I. Dittrich, A. Geide, B. Kettner, HJ. Otto, S. Schmidt, DL. Munz, Somatostatin receptor scintigraphy in small-cell lung cancer: Results of a multicenter study, *J. Nucl. Med.* **39** (1998) 224-227.
- [4] D. Kwekkeboom, EP. Krenning, M. de Jong, Peptide receptor imaging and therapy, *J. Nucl. Med.* **41** (2000) 1704-1713.
- [5] ET. Janson, JE. Westlin, U. Ohrvall, K. Oberg, A. Lukinius, Nuclear localization of  $^{111}\text{In}$  after intravenous injection of [ $^{111}\text{In}$ -DTPA-D-Phe1]-Octreotide in patients with neuroendocrine tumors, *J. Nucl. Med.* **41** (2000) 1514-1518.
- [6] S. Ezziddin, T. Logvinski, C. Yong-Hing, H. Ahmadzadehfar, HP. Fischer, H. Palmedo, J. Bucerius, MJ. Reinhardt, HJ. Biersack, Factors predicting tracer uptake in somatostatin receptor and MIBG scintigraphy of metastatic



- gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *J. Nucl. Med.* **47** (2006) 223-233.
- [7] O. Schillaci, A. Spanu, F. Scopinaro, A. Falchi, R. Danieli, P. Marongiu, N. Pisu, G. Madeddu, G. Delle Fave, G. Madeddu, Somatostatin receptor scintigraphy in liver metastasis detection from gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *J. Nucl. Med.* **44** (2003) 359-368.
- [8] JR. Buscombe, ME. Caplin, AJ. Hilson, Long term efficacy of high-activity  $^{111}\text{In}$ -pentetreotide therapy in patients with disseminated neuroendocrine tumors, *J. Nucl. Med.* **44** (2003) 1-6.
- [9] A. Capello, EP. Krenning, WA. Breeman, BF. Bernard, M. de Jong, Peptide receptor radionuclide therapy in vitro using [ $^{111}\text{In}$ -DTPA $^0$ ] octreotide, *J. Nucl. Med.* **44** (2003) 98-104.
- [10] S. Hoegerle, C. Althoefer, N. Ghanem, G. Koehler, CF. Waller, H. Scheruebl, E. Moser, E. Nitzsche, Whole-body 18F DOPA PET for detection of gastrointestinal carcinoid tumors, *Radiology.* **220** (2001) 373-380.
- [11] D. Taïeb, H. Neumann, D. Rubello, A. Al-Nahas, B. Guillet, E. Hindié, Modern nuclear imaging for paragangliomas: beyond SPECT. *J. Nucl. Med.* **53** (2012) 264-274.
- [12] M. Duet, E. Sauvaget, B. Pételle, N. Rizzo, JP. Guichard, M. Wassef, J. Le Cloirec, P. Herman, P. Tran Ba Huy, Clinical impact of somatostatin receptor scintigraphy in the management of paragangliomas of the head and neck, *J. Nucl. Med.* **44** (2003) 1767-1774.
- [13] D. Myssiorek, CJ. Palestro,  $^{111}\text{In}$  indium pentetreotide scan detection of familial paragangliomas. *Laryngoscope.* **108** (1998) 228-231.
- [14] KP. Koopmans, PL. Jager, IP. Kema, MN. Kerstens, F. Albers, RP. Dullaart,  $^{111}\text{In}$ -octreotide is superior to  $^{123}\text{I}$ -metaiodobenzylguanidine for scintigraphic detection of head and neck paragangliomas. *J. Nucl. Med.* **49** (2008) 1232-1237.
- [15] AR. Haldemann, H. Rösler, A. Barth, B. Waser, L. Geiger, N. Godoy, RV. Markwalder, RW. Seiler, M. Sulzer, JC. Reubi, Somatostatin receptor scintigraphy in central nervous system tumors. *J. Nucl. Med.* **36** (1995) 403-410.
- [16] JD. Lee, DI. Kim, JT. Lee, JW. Chang, CY. Park, Indium-111-Pentetreotide Imaging in Intra-axial Brain Tumors: Comparison with Thallium-201 SPECT and MRI. *J. Nucl. Med.* **36** (1995) 537-541.
- [17] PJ. Van den Anker-Lugtenburg, EP. Krenning, HY. Oei, MP. Van Hagen, CJ. Gerrits, JC. Reubi, SW. Lamberts, B. Löwenberg, Somatostatin receptor scintigraphy in the initial staging of low-grade non-Hodgkin's lymphomas, *J. Nucl. Med.* **42** (2001) 222-229.
- [18] D. Kwekkeboom, EP. Krenning, M. de Jong, Peptide receptor imaging and therapy, *J. Nucl. Med.* **41** (2000) 1704-1713.
- [19] WA. Breeman, M. de Jong, DJ. Kwekkeboom, R. Valkema Willem, H. Bakker, P.P. KooijTheo, J.V. Krenning, Somatostatin receptor-mediated imaging and therapy: basic science, current knowledge, limitations and future perspectives. *Eur. J. Nucl. Med.* **28** (2001) 1421-1429.
- [20] WA. Breeman, MT. De Jong, E. De Blois, BF. Bernard, M. De Jong, EP. Krenning, Reduction of skeletal accumulation of radioactivity by co-injection of DTPA in [ $^{90}\text{Y}$ -DOTA $^0$ , Tyr $^3$ ] octreotide solutions containing free  $^{90}\text{Y}^{3+}$ , *Nucl. Med. Biol.* **31** (2004) 821-824.
- [21] C. Boy, TA. Heusner, TD. Poeppel, A. Redmann-Bischofs, N. Unger, W. Jentzen, W. Brandau, K. Mann, G. Antoch, A. Bockisch, S. Petersenn,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC PET/CT and somatostatin receptor (sst1-sst5) expression in normal human tissue: correlation of sst2 mRNA and SUVmax. *Eur. J. Nucl. Med.* **38** (2011) 1224-1236.
- [22] TD. Poeppel, I. Binse, S. Petersenn, H. Lahner, M. Schott, G. Antoch, W. Brandau, A. Bockisch, C. Boy, Differential Uptake of ( $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC and ( $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE in PET/CT of Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors, *Recent Results Cancer Res.* **194** (2013) 353-371.
- [23] V. Prasad, V. Ambrosini, M. Hommann, D. Hoersch, S. Fanti, RP. Baum, Detection of unknown primary neuroendocrine tumours (CUP-NET) using ( $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC receptor PET/CT. *Eur. J. Nucl. Med.* **37** (2010) 67-77.
- [24] V. Prasad, RP. Baum, Biodistribution of the Ga-68 labeled somatostatin analogue DOTANOC in patients with neuroendocrine tumors: characterization of uptake in normal organs and tumor lesions. *Q. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* **54** (2010) 61-67.
- [25] A. Al-Ibraheem, RA. Bundschuh, J. Notni, A. Buck, A. Winter, HJ. Wester, M. Schwaiger, K. Scheidhauer, Focal uptake of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC in the pancreas: pathological or physiological



correlate in patients with neuroendocrine tumours, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* **38** (2011) 2005-2013.

[26] WA. Breeman, M. De Jong, BF. Bernard, DJ. Kwekkeboom, A. Srinivasan, ME. Van Der Pluijm, LJ. Hofland, TJ. Visser, EP. Krenning, Pre-clinical evaluation of [(111)In-DTPA-Pro(1), Tyr(4)] bombesin, a new radioligand for bombesin-receptor scintigraphy. *Int. J. Cancer* **83** (1999) 657-663.

[27] WA. Breeman, DJ. Kwekkeboom, PP. Kooij, WH. Bakker, LJ. Hofland, TJ. Visser, GJ. Ensing, SW. Lamberts, EP. Krenning, Effect of dose and specific activity on tissue distribution of indium-111-pentetreotide in rats. *J. Nucl. Med.* **36** (1995) 623-627.

[28] WA. Breeman, MP. VanHagen, HA. Visser-Wisselaar, ME. Van Der Pluijm, JW. Koper, B. Setyono-Han, WH. Bakker, DJ. Kwekkeboom, MP. Hazenberg, SW. Lamberts, TJ. Visser, EP. Krenning, In vitro and in vivo studies of substance P receptor expression in rats with the new analog [indium-111-DTPA-Arg1]substance P. *J. Nucl. Med.* **37** (1996) 108-117.

[29] P. Jonard, J. François, Effect of peptide amount on biodistribution of Y-86-DOTA-Tyr3-octreotide (SMT487), *J. Nucl. Med.* **41** (2000) 260P.

[30] MC. Jebbink, JB. Jansen, FG. Van Der Kleij, DM. Mooy, LC. Rovati, CB. Lamers, Effect of duodenal juice on bombesin-stimulated cholecystokinin release during loxiglumide

administration in man, *Eur. J. Clin. Invest.* **23** (1993) 529-533.

[31] M. Bünemann, M. Hosey, G-protein coupled receptor kinases as modulators of G-protein signalling, *J. Physiol.* **517** (1999) 5-23.

[32] JK. Sosabowski, SJ. Mather, Conjugation of DOTA-like chelating agents to peptides and radiolabeling with trivalent metallic isotopes, *Nat. Protoc.* **1** (2006) 972-976.

[33] K. Chavatte, J. Mertens, D. Terriere, P. Van Den Winkel, Parameters ruling optimization of radiolabelling of polyamino polycarboxylated functionalized peptide derivatives: a case study report, *Nucl. Med. Biol.* **28** (2001)745-749.

[34] R. Yavari, Ar. Khanchi, H. Rafii, M.G. Maragheh, M.A. Farajzadeh, Radiochemical separation of <sup>111</sup>In from Cd and Cu by Ion Exchange chromatography. *Nucl. Sci and Tech.* **34** (2005) 1-6.

[35] S.M. Moerlein, M.J. Welch, The chemistry of gallium and indium as related to radiopharmaceutical production. *Int. J. Nucl. Med. Biol.* **8** (1981) 277-287.