



تهیه رادیوداروی $[^{61}\text{Cu}]$ - پیروآلدئید بیس (N^4 -متیل تیوسمی کاربازون) ($[^{61}\text{Cu}]$ -PTSM) و کنترل کیفی آن برای تشخیص پزشکی به روش PET

امیررضا جلیلیان^{*}، پژمان روشن‌فرزاد، مهشید ثابت، محسن کمالی دهقان، محمد میرزایی، امیرعباس رجامند
مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۴۹۸-۳۱۴۸۵، کرج-ایران

چکیده: یکی از مهمترین رادیوداروهای حاوی رادیوایزوتوپهای مس که در حال حاضر به صورت آزمایشی به مصارف بالینی می‌رسد، رادیوداروی پیروآلدئید بیس (N^4 -متیل تیوسمی کاربازون) (Cu-PTSM) است. در این کار پژوهشی مراحل تولید رادیوایزوتوپ مس-۶۱ به صورت محصول بمباران روی طبیعی در اثر واکنش هسته‌ای $^{61}\text{Cu}(\text{p,xn})^{61}\text{Zn}$ به وسیله پروتونهای شتاب گرفته در سیکلوترون با انرژی ۲۲ مگا الکترون ولت و شدت جریان ۱۵۰ میکرو آمپر، که منجر به تولید مس-۶۱ با آکتیویته ۶/۳۳ کوری و بهره تولید حدود ۳۳/۳ میلی کوری بر میکروآمپر-ساعت گردید توصیف شده، سپس سنتز و تأیید کامل ساختار مولکولی ماده چنگکی پیروآلدئید بیس (N^4 -متیل تیوسمی کاربازون) به روشهای طیف سنجی، و در نهایت نشاندارسازی آن با مس-۶۱ به صورت کلرید گزارش شده است. در این بررسی، کنترل کیفی کامل رادیودارو به منظور اطمینان از قابلیت تزریق آن به موجود زنده نیز انجام شد.

واژه‌های کلیدی: مس ۶۱، پرتوداروها، واکنش‌های هسته‌ای، ترکیبات مس، کنترل کیفیت، $^{61}\text{Cu-PTSM}$.

Preparation and Quality Control of $[^{61}\text{Cu}]$ Pyruvaldehyde-Bis (N^4 -Methylthiosemicarbazone) Complex for PET Diagnosis

A.R. Jalilian^{*}, P. Rowshanfarzad, M. Sabet, M. Kamalidehghan, M. Mirzaii, A.A. Rajamand
Nuclear Research Center for Agriculture and Medicine, AEOI, P.O. Box: 31485 - 498, Karaj - Iran

Abstract: Cu-pyruvaldehyde-bis(N^4 -methylthiosemicarbazone) (Cu-PTSM) is the most important copper radiopharmaceutical used in clinical experiments. In this work, Copper-61 ($T_{1/2}=3.33$ h) production process was accomplished via the $^{61}\text{Cu}(\text{p,xn})^{61}\text{Zn}$, using 22MeV protons, and the current of 150 μA , resulted in 6.33 Ci of copper-61 with the production yield of 33.3 mCi/ μAh . The complexing agent, PTSM, was synthesized and its structure was confirmed by the common spectroscopic methods, followed by radiolabeling with $^{61}\text{Cu-CuCl}_2$. The final radiopharmaceutical solution underwent common quality control tests for animal injection.

Keywords: copper-61, radiopharmaceuticals, nuclear reactions, copper compounds, quality control, $^{61}\text{Cu-PTSM}$, PET



۱- مقدمه

آنها در بدن پایداری مناسبی نشان نداده‌اند. از جمله این کمپلکسها می‌توان به Cu-DTPA و Cu-EDTA اشاره کرد [۱۵ و ۱۶]. بسیاری از لیگاندهای مس برای تصویربرداری از تومورها و درمان آنها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. یکی از این مواد ATSM^(۱) است که در تصویربرداری از بافتهای سرطانی کم اکسیژن‌دار به کار رفته است [۱۷]. ولی بدون شک بهترین کمپلکس مس در پزشکی هسته‌ای نوین [Cu]- پیروآلدئید بیس - (N^۴- متیل تیوسمی کاربازون) (Cu-PTSM) است [۱۸ و ۱۹] که برای تصویربرداری از خون رسانی بافت عضلانی قلب و مغز بکار می‌رود [۲۰ تا ۲۴]. نکته جالب این است که کمپلکس خنثای مس دو ظرفیتی، پس از رسیدن به برخی تومورها (که بیشتر آنها کم اکسیژن نیز هستند) به صورت یون مس یک ظرفیتی احیا می‌شود. در نتیجه بار کلی کمپلکس منفی شده و در فضای چربی دوست یاخته سرطانی به دام می‌افتد و می‌تواند وظیفه تشخیصی و یا درمانی خود را انجام دهد.

با توجه به تولید آزمایشی رادیوایزوتوپ مس-۶۲ به صورت ژنراتور ^{۶۵}Zn/^{۶۲}Cu [۲۵] و لزوم انجام دادن تحقیقات بیشتر روی رادیوداروهای مس، بر آن شدیم تا ضمن امکان‌سنجی تولید مس-۶۱ به عنوان رادیونوکلئید پوزیترون دهنده و سنتز ماده اولیه PTSM^(۲)، به تهیه و کنترل کیفی مهم‌ترین رادیوداروی حاوی رادیوایزوتوپ مس یعنی رادیوداروی ^{۶۱}Cu-PTSM بپردازیم.

۲- روش کار

کلیه مواد شیمیایی از کمپانی Aldrich تهیه شدند. کروماتوگرافی مواد نشاندار نشده روی لایه نازک سیلیکاژل بر پایه آلومینیومی (مدل F 1500/LS 254, 20 × 20 cm, TLC Ready Foils Schleicher & Schuell) صورت گرفت. رادیوکروماتوگرافی روی یک موتور متحرک مجهز به آشکارساز ژرمانیوم فرا خالص مدل (GC1020-7500 SL) با استفاده از لایه‌های سیلیکاژل بر پایه آلومینیوم صورت گرفت. کلیه شمارشها با استناد به پیک ۲۸۳ کیلو الکترون ولت انجام شد. روی طبیعی به صورت اکسید با درجه خلوص بیش از ۹۹ درصد برای ساخت هدف مورد استفاده قرار گرفت.

یکی از رادیوایزوتوپهای مورد توجه در تحقیقات پزشکی هسته‌ای، مس-۶۱ است که به دلیل داشتن نیمه عمر مناسب و سهولت تولید، یکی از بهترین گزینه‌ها برای تهیه مولکولهای نشاندار تشخیصی به شمار می‌رود [۱ تا ۴]. نیمه عمر رادیوایزوتوپ مس-۶۱ در حدود ۳/۳۳ ساعت است و در اثر واپاشی آن به ایزوتوپ پایدار نیکل ۶۱، فوتونهای گامای شاخص ۲۸۳ کیلو الکترون ولت (۱۲/۲٪)، ۶۵۶ کیلو الکترون ولت (۱۰/۸٪) و ۵۱۱ کیلو الکترون ولت (۱۲۰٪) گسیل می‌شوند. و احتمال گسیل ذره β⁺ با انرژی معادل ۱/۲۲ مگا الکترون ولت [۵] به میزان ۶۱٪ و گیراندازی الکترونی^(۱) ۳۹٪ گزارش شده است [۶] مشخصات هسته‌ای این رادیوایزوتوپ به طور خلاصه در جدول ۱ درج شده است [۷].

رادیوایزوتوپ مس-۶۱ به وسیله واکنش ^{nat}Zn(p,xn)^{۶۱}Cu در سیکلوترون قابل تولید است. نکته جالب توجه، کیفیت عالی کمپلکس‌پذیری مس دو ظرفیتی، از نظر هم‌تافتی^(۲) نسبت به تکنسیوم و عدم نیاز به واکنشگرهای احیاکننده رایج در پردازش شیمیایی تکنسیوم است. مس دو ظرفیتی به آسانی کمپلکسهای مسطح چربی دوست فاقد بار الکتریکی ایجاد می‌کند که آنها را می‌توان برای بررسی خون‌رسانی قلب و تصویربرداری از بافتهای سرطانی مورد استفاده قرار داد [۸ تا ۱۰]. بسیاری از پادتهای اختصاصی یاخته‌های سرطانی را با این ایزوتوپ نشاندار کرده و برای تشخیص بدخیمی‌ها بکار برده‌اند [۱۱ تا ۱۳]. در برخی موارد، کمپلکسهای مس-۶۷ در ایمونوتراپی سرطانهای لنفوم غیرهوجکین^(۳) برتری مطلق دارند. به علاوه در بسیاری از سرطانهای روده بزرگ، مس-۶۷ نشاندار شده با پادتن CEA^(۴) نسبت به هم آمیخته‌های پد رادیوآکتیو، پاسخ درمانی بهتری نشان داده است [۱۴].

تاکنون کمپلکسهای متعددی از مس تهیه شده است که در تشخیص پزشکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، اما متأسفانه اکثر

جدول ۱- مشخصات هسته‌ای رادیوایزوتوپ مس-۶۱.

رادیوایزوتوپ	نیمه عمر	انرژیهای گاما (keV) و شدت (%)
^{۶۱} Cu	۳/۳۳ ساعت	۵۱۱ : β ⁺ (۱۲۰)
		۱۱۸۵/۲۳ (۳/۷۵) ، ۶۵۶ (۱۰/۸۷) ، ۳۷۳ (۲/۱۵) ۲۸۲/۹۶ (۱۲/۲) ، ۶۷/۴۱ (۴/۳۳)



۱-۲ استخراج مس-۶۱ از هدف و خالص سازی آن

هدف روی (Zn) طبیعی به ضخامت تقریبی ۷۵ میکرون بر روی زیر لایه مس با روکش نازکی از طلا، به روش آبکاری لایه ضخیم نشانده شد. روکش طلا به منظور جلوگیری از ورود مس حامل به محصول، مورد استفاده قرار گرفت. ماده هدف، پس از بمباران با پروتونهای ۲۲ MeV، بلافاصله در ۱۵ میلی لیتر محلول اسید کلریدریک ۱۰ نرمال حاوی ۲۰ میکرولیتر (دو قطره) آب اکسیژنه حل، و در ستون کروماتوگرافی مبادله یونی (200-400 mesh, AG 50W H⁺ form, h:10 cm, Ø:1.3 cm) که با ۲۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۹ نرمال قبلاً شسته شده بود، تزریق گردید. گالیوم در ستون کروماتوگرافی جذب و یونهای روی و مس دو ظرفیتی با ۲۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۹ نرمال از ستون خارج شدند. با افزودن ۳۰ میلی لیتر آب به این محلول، حدود ۹۵ تا ۱۰۰ میلی لیتر محلول اسیدی ۶ نرمال به دست آمد. کل این فرایند طی مدت ۴۵ دقیقه انجام شد. ماده حاصل، به ستون مبادله یونی (100-200 mesh, AG1x8 Cl⁻ form, h:25 cm, Ø:1.7 cm) از پیش شسته شده با ۱۰۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۶ نرمال منتقل، و پس از شستشو با ۵۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال، مس-۶۱ به صورت کلراید مس-۶۱ خارج شد. این مرحله ۱۵ دقیقه به طول انجامید.

۲-۲ کنترل کیفی

الف- خلوص شیمیایی

تولید مس-۶۱ با بمباران هدف Zn جامد روی نگهدارنده‌ای از جنس مس طبیعی با روکش طلا صورت گرفت. بنابراین، محلول نهایی کلراید مس-۶۱ به لحاظ وجود عناصر مس و روی بررسی شد. کنترل کیفی محصول با استفاده از روشهای رنگ‌سنجی، مورد تأیید دارونامه‌های رسمی، با استفاده از معرف دی‌تیزون انجام گرفت.

ب- خلوص رادیونوکلئیدی

خلوص رادیونوکلئیدی محصول با استفاده از آشکارساز ژرمانیوم فراخالص (HPGe) جفت شده با آنالیزور چند کاناله مورد بررسی قرار گرفت.

۳-۲ تهیه پیروآلدئید بیس (N^۴-متیل تیوسمی کاربازون)

تهیه این ترکیب، بر طبق روش کلی تهیه ترکیبات تیوسمی کاربازون، از آلدئیدهای مربوط به آن انجام شد [۲۶]. محلول پیروآلدئید (۱۱۵ میلی گرم، ۱ میلی مول) در ۵ میلی لیتر اتانول به مدت ۵ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد، قطره قطره به مخلوط N^۴-متیل تیوسمی کاربازید (۲۱۰ میلی گرم، ۲ میلی مول) در ۱۰ میلی لیتر اتانول مطلق، در حال بهمزدن افزوده شد. پس از ۱۰ دقیقه که ظرف واکنش سرد شده بود، محتویات آن صاف و رسوب حاصل، ابتدا به وسیله دی‌اتیل اتر و پس از آن با ۵ میلی لیتر آب شسته شده، سپس در اتانول داغ متبلور شد و جسمی با نقطه ذوب ۲۴۱-۲۴۳ درجه سلسیوس بدست آمد. وزن بلورهای حاصل در حدود ۲۹۳ میلی گرم (بازده ۶۰ درصد) بود. داده‌های طیفی PTSM چنین است:

¹H NMR (D₆ - DMSO) δ (ppm) 11.74 (s, 1H, NH-N₂), 10.33 (s, 1H, NH-N₂), 9.43 (m, 2H, NH-N₄), 7.68 (s, 1H, H-C=N), 3.31 (s, 3H, CH₃-C=N).
IR (CHCl₃) λ_{max} 3208, 3132 (N-H), 1429 (C=N), 1111 (C=S). Mass (electrospray) 246.1 (14%) M⁺, 215(7), 172(4), 157.1(76), 130(65), 115.8(98), 73.8(100), 56.9(68).

۴-۲ تهیه [⁶¹Cu] - پیروآلدئید بیس (N^۴-متیل تیوسمی کاربازون)

به ظرفی ۵ میلی لیتری، حاوی ۳ میلی لیتر محلول رادیوآکتیو (۳ میلی کوری) کلراید مس-۶۱، ۴ میلی لیتر محلول استات سدیم ۳ مولار افزوده شد تا به صورت استات مس درآید. سپس ۳ میکروگرم پیروآلدئید بیس (N^۴-متیل تیوسمی کاربازون) محلول در الکل اتیلیک (۲۰۰ میکرولیتر) به مخلوط اضافه و در حرارت ملایم ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه به شدت همزده شد. ظرف به دمای محیط رسانده شد و ماده حاصل به وسیله سرنگ به ستون کروماتوگرافی یک بار مصرف فاز معکوس (C₁₈ Sep- Pak) تزریق گردید. سپس ستون با ۱ تا ۳ میلی لیتر آب شسته شد تا باقیمانده مس بدون واکنش خارج شود. در پایان عمل، ستون به وسیله جریان ازت خشک شد. رادیوداروی خالص به وسیله ۰/۲ میلی لیتر اتانول



استات به عنوان فاز متحرک، مورد بررسی قرار گرفت [۲۷].
درجه خلوص رادیوشیمیایی با مقایسه رادیوپیک مولکول
نشانداز ^{64}Cu - پیروالدئید بیس - (N-۴) - متیل تیوسمی
کاربازون) در $R_f = 0.185$ نسبت به رادیوپیک یون مس-۶۱ در
 $R_f = 0$ بررسی شد.

۳- یافته‌ها و بحث

بمباران: پس از ۱۹۰ میکروآمپر ساعت بمباران پروتونی با
انرژی ۲۲ میلیون الکترون ولت و شدت جریان ۱۵۰ میکروآمپر،
محصول نهایی (^{64}Cu) با آکتیویته ۶/۳۳ کوری به دست آمد.
بهره تولید در حدود ۳۳/۳ میلی کوری بر میکروآمپر ساعت
حاصل شد.

کنترل کیفی محصول مس-۶۱: کنترل شیمیایی با استفاده
از معرف دی تیزون انجام شد. در صورت وجود یونهای مس و
روی، محلول به ترتیب به رنگ صورتی و زرد در می آید. با
وجود این که حداکثر دقت عملی در این تحقیق برای روی تا
۱/۵ و برای مس تا ۰/۵ بخش در میلیون بود، هیچ تغییر رنگی در
محلول مشاهده نشد که بیانگر عدم وجود یونهای مذکور تا حد
بسیار پایین تر از محدوده مجاز دارونامه‌های رسمی بین‌المللی
است (به ترتیب برای روی و مس حد فارماکوپه ایالات متحده:
۱۰ و ۶ بخش در میلیون و حد فارماکوپه اروپا: ۵ و ۵ بخش در
میلیون است).

در شکل ۳ طیف کامل نمونه، حاصل از آشکارساز ژرمانیوم
فراخالص نشان داده شده است. بطوری که در شکل مشاهده
می‌شود، طیف دارای فوتوپیکهای ۶۷ و ۲۸۲/۹ و ۳۷۳ و ۵۱۱ و
۶۵۶ کیلوالکترون ولت است که همه آنها مربوط به
رادیویزوتوپ پوزیترون‌دهنده مس-۶۱ هستند. بنابراین، محصول
از درجه خلوص رادیونوکلئیدی بالایی برخوردار است.

سنتز ماده کمپلکس کننده: واکنش بین تیوسمی کاربازید و
آلدئید از مهمترین واکنشهای تشخیص دهنده آلدئیدها است که با
تولید رسوب تیوسمی کاربازون مربوط به آن همراه است. با چند
بار سرد و گرم کردن ظرف واکنش، مقادیر بیشتری از محصول
رسوب می‌کند. برای انجام دادن واکنش نشاندازسازی،
بلوری کردن مجدد محصول در مجاورت محلول آب-الکلی
داغ، به منظور ایجاد بلورهایی با درجه خلوص بالا ضروری است.

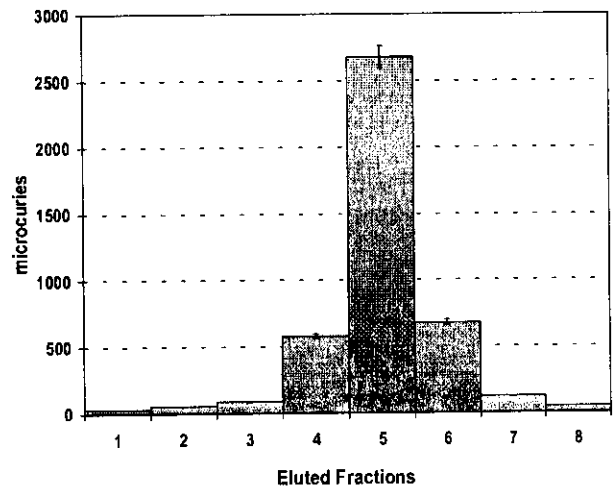
از ستون استخراج گردید. محلولهای خروجی با روش دزسنجی
اندازه‌گیری شدند (شکل ۱).

محلول شوینده دارای بیشترین آکتیویته (لوله ۵)، به عنوان
نمونه مناسب انتخاب و با افزودن ۷/۵ میلی‌لیتر محلول نمکی
نرمال فرمول بندی شد. برای انجام آزمونهای بیولوژیکی، محلول
نهایی از ستون Millex با منافذ ۰/۲۲ میکرونی عبور داده شد.
آزمایشهای کنترل کیفی (شامل کنترل رادیونوکلئیدی،
رادیوشیمیایی، شیمیایی) روی محلول حاصل نیز انجام شدند.

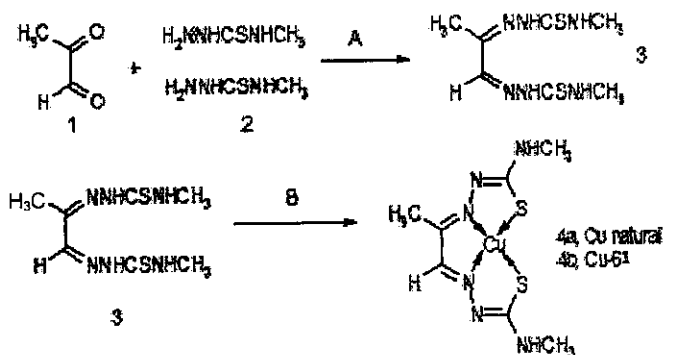
نمودار شمایی روش تولید ترکیبات PTSM و Cu-PTSM
در شکل ۲ نشان داده شده است.

۵-۲ کنترل کیفی داروی ^{64}Cu - پیروالدئید بیس - (N-۴) - متیل تیوسمی کاربازون

برای انجام کنترل کیفی، محلول رادیوآکتیو حاصل به
روش کروماتوگرافی روی لایه نازک سیلیکاژل با حلال اتیل



شکل ۱- آکتیویته محلول شوینده رادیودارو که به تدریج با حجم ۰/۲
میلی‌لیتر از ستون $\text{C}_{18}\text{Sep-Pak}$ خارج و در دزسنج شمارش شده است.

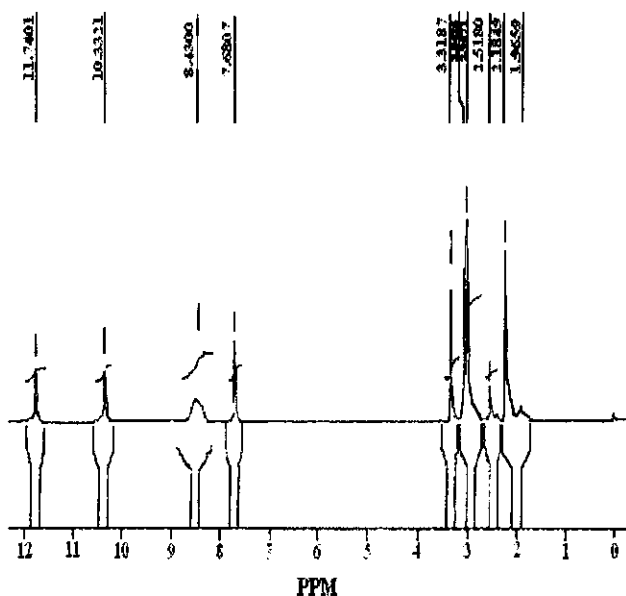


شکل ۲- نمودار شمایی از روش تولید ترکیبات PTSM(3) و Cu-PTSM(4).

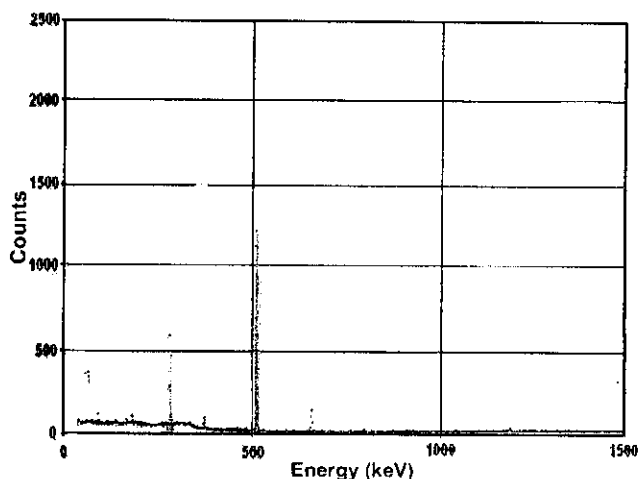


میدان مغناطیسی احساس شود. متیل متصل به گروه ایمیو - $\text{CH}_2\text{C}=\text{N}$ دارای جابجایی متفاوت بوده و در حدود ۳/۴ بخش در میلیون دیده می‌شود. تک شاخه‌های پروتونهای متصل به نیتروژن در جابجایی‌های شیمیایی متفاوت در ۷/۶، ۱۰/۳، ۱۱/۷ بخش در میلیون دیده می‌شود. پروتون وینیلی توسط استخلافات ۱-۳ به صورت ۴ تایی شاخه‌دار شده و در ۸/۴ بخش در میلیون دیده می‌شود. چند شاخه موجود در ۲/۵ بخش در میلیون مربوط به حلال آزمون یعنی دی‌متیل سولفوکسید است؛ بنابراین طیف‌نگاری NMR نیز ساختار مولکولی به دست آمده را تأیید می‌کند (شکل ۵).

نشانداری: در هر نشانداری، نسبت پیک رادیوکروماتوگرام ^{61}Cu -PTSM در $R_f = 0/85$ و یون مس در $R_f = 0$ معیار موفقیت آمیز بودن نشانداری در نمونه دارویی محسوب می‌شود. فرم ^{61}Cu -PTSM که دارای جذب فرابنفش و جذب در ناحیه بسامد نور زرد است، بیشینه جذب رادیوآکتیویته را نیز دارا می‌باشد. این مولکول نشانداری به سبب درگیر شدن گروه‌های قطبی SH و NH مولکول اولیه PTSM پس از نشانداری شدن با مس-۶۱ دارای قطبیت بسیار کمتری می‌شود. از همین خاصیت در جداسازی شیمیایی ^{61}Cu -PTSM از ماده نشانداری نشده، یون مس و سایر کمپلکسهای احتمالی فاقد اثر دلخواه، استفاده می‌شود.



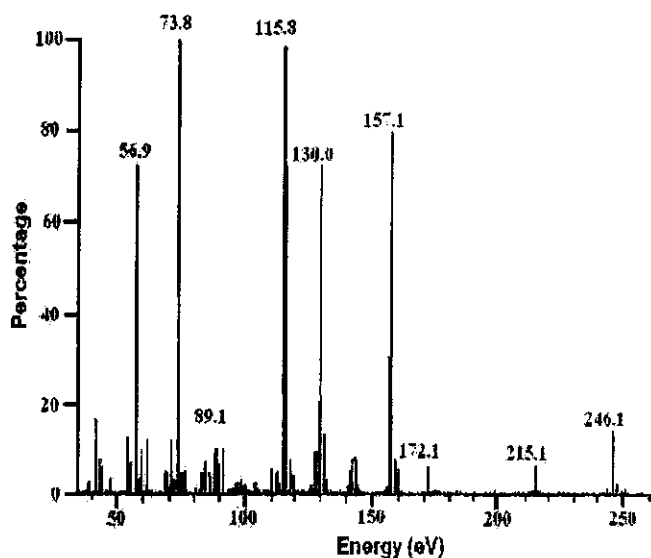
شکل ۵- طیف تشدید مغناطیسی هسته هیدروژن برای مولکول PTSM سنتز شده.



شکل ۳- فوتو پیک‌های طیف محلول نهایی حاصل از استخراج و خالص سازی مس-۶۱.

طیف‌نگاری جرمی نمونه، جرم مولکولی محصول را در ۲۴۶ نشان داد که مؤید وجود ماده PTSM است، هر چند ارتفاع پیک آن نسبتاً کم است (در حدود ۱۴٪). این رفتار در مورد تیوسی کاربازونها شناخته شده است، زیرا پایداری حرارتی آنها اندک است و با حذف پاره‌های مولکولی شکسته می‌شوند (شکل ۴).

برای تأیید ساختار پروتونی ترکیب سنتز شده، از روش طیف‌سنجی ^1H NMR استفاده شد. طیف‌نگاری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و در حلال دی‌متیل سولفوکسید با شش اتم دوتریوم انجام شد. جابجایی شیمیایی گروه‌های (NCH_2) در ناحیه‌ای بسیار نزدیک ولی اندکی متفاوت دیده می‌شود. به نظر می‌رسد درهم پیچیدگی مولکول موجب می‌شود که تقارن موجود در آن از بین برود و دو نوع متیل متفاوت توسط



شکل ۴- طیف جرمی مولکول سنتز شده PTSM.

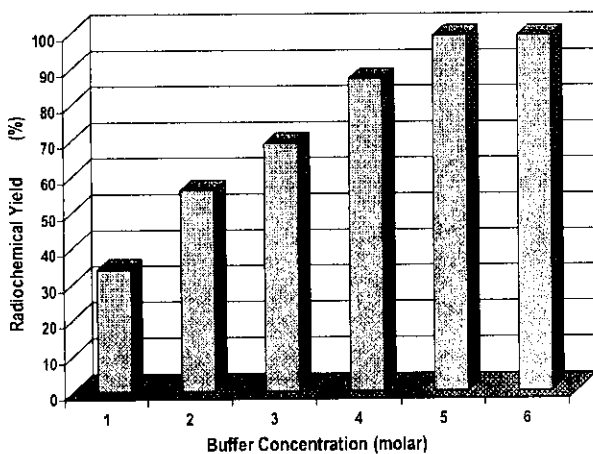


بازده نشاندارسازی (نسبت ماده نشاندار به مس آزاد) تعیین شد (شکل ۸).

ب) اثر دما: افزایش دمای واکنش تا ۵۰ درجه سانتی گراد باعث افزایش بازده شد ولی از ۵۵ تا ۷۰ درجه سانتی گراد تغییری در بازده مشاهده نشد. حرارت دادن بیش از ۷۰ درجه سانتی گراد منجر به تولید محصول نشاندار دیگری می شد که بدون شک ماده مورد نظر نبود و از طرفی در خالص سازی محصول نهایی اختلال ایجاد می کرد. با توجه به این که در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد بازده بسیار مناسبی بدست آمد، ۵۰ درجه سانتی گراد به عنوان دمای مناسب انتخاب شد.

ج) اثر زمان: در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد (دمای بهینه)، در ۵ دقیقه اول، بازده رادیوشیمیایی بسیار خوبی بدست آمد، پس از آن تغییر محسوسی مشاهده نشد. بنابراین، با توجه به کافی بودن نیمه عمر رادیوایزوتوپ مس-۶۱ (حدود ۳/۳ ساعت)، این زمان قابل قبول است.

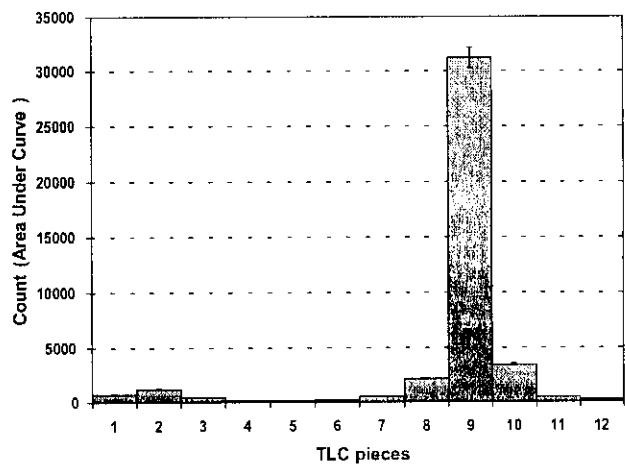
د) اثر نسبت مس رادیوآکتیو به PTSM: واکنش مقادیر ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ میکروگرم PTSM با ۳ میلی کوری از محصول (به صورت کلراید مس) در شرایط پیش گفته بررسی شد. بهترین واکنش با حدود ۲-۳ میکروگرم PTSM حاصل شد و بکاربردن از مقادیر بیشتری از این ماده، در بازده تغییری ایجاد نکرد، اما PTSM غیر رادیوآکتیو در اتصال با یاخته سرطانی با داروی نشاندار رقابت می کند و اثرهای سمی نیز دارد. بنابراین مناسب ترین نسبت برای مس رادیوآکتیو بر حسب میلی کوری و PTSM بر حسب میکروگرم، یک به یک تعیین شد.



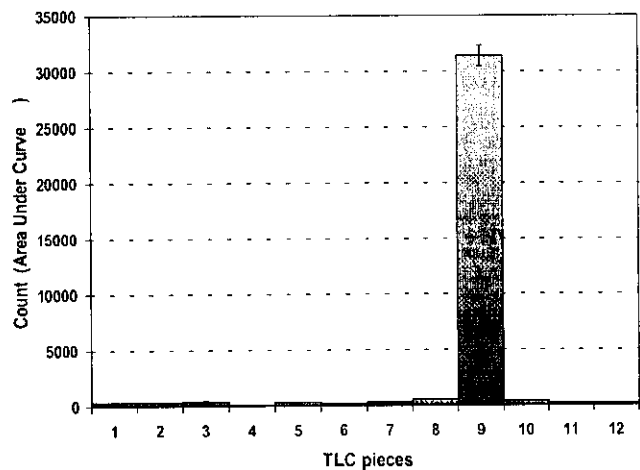
شکل ۸- رابطه غلظت بافر اولیه و بازده رادیوشیمیایی در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد.

کنترل کیفی محصول نشاندار شده: خلوص رادیوشیمیایی ^{64}Cu -PTSM به دست آمده، به روش کروماتوگرافی روی لایه نازک سیلیکاژل انجام شد. شکل های ۶ و ۷ رادیوکروماتوگرامهای محلول حاصل از واکنش را قبل و بعد از استفاده از ستون کروماتوگرافی C_{18} نشان می دهند. به منظور دستیابی به بهترین شرایط واکنش، آزمایشهایی برای تعیین اسیدیته، دما، زمان و نسبت PTSM به آکتیویته انجام گرفت:

الف) اثر اسیدیته: از آنجا که PTSM دارای گروههای شبه اسیدی است، بهترین بار الکتریکی برای کمپلکس شدن، در صورت منفی شدن گروههای شبه اسیدی، در مجاورت باز ضعیف می باشد. با افزودن محلولهای ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ مولار استات سدیم به محلول اسیدی کلرید مس اولیه برای تهیه استات مس،



شکل ۶- رادیوکروماتوگرام محلول نشاندار شده قبل از عبور از C_{18} Sep-Pak بر اساس پیک ۲۸۳ keV.



شکل ۷- رادیوکروماتوگرام محلول لوله ۵ پس از عبور از C_{18} Sep-Pak بر اساس پیک ۲۸۳ keV در شرایط بهینه.



پی‌نوشت‌ها:

- ۱- Electron Capture
- ۲- Coordinance
- ۳- Non-Hodgekin Lymphoma
- ۴- Chorionic Embryonic Antibody
- ۵- Acetyl- Methylthiosemicarbazone
- ۶- PTSM: Pyruvaldehyde-Bis (N¹-Methylthiosemicarbazone)
- ۷- PET: Positron Emission Tomography

References:

1. S. Mirzadeh, L.F. Mausner, S.C. Srivastava, "Production of No-Carrier Added ⁶⁷Cu," *Int. J. Appl. Radiat Isot.* **37(1)**, 29-36 (1986).
2. D.W. McCarthy, L.A. Bass, P.D. Cutler, R.E. Shefer, R.E. klinkowstein, P. Herrero, J. S. Cutler, C.J. Anderson, M. J. Welch, "High purity production and potential applications of copper-60 and copper-61," *Nucl. Med. Biol.* **26**, 351-358 (1999).
3. C.S. Cutler, J.S. Lewis, C.J. Anderson, "Utilization of metabolic, transport and receptor-mediated processes to deliver agents for cancer diagnosis," *Advanced Drug Delivery Reviws.* **37**, 189-211 (1999).
4. F. Szelecsényi, K. Suzuki, Z. Kovács, M. Takei, K. Okada, "Production possibility of ^{60,61,62}Cu radioisotopes by alpha induced reactions on cobalt for PET studies," *Nucl. Inst. Meth. [b].*, **187**, 153-163 (2002).
5. H. Muramatsu, E. Shirai, H. Nakahara, Y. Murakami, "Alpha particle bombardment of natural nickel target for the production of ⁶¹Cu," *Int. J. Appl. Radi. Isot.* **29**, 611-614 (1978).
6. F. Szelecsényi, G. Blessing, M. Qaim, "Excitation functions of proton induced nuclear reactions on enriched ⁶¹Ni and ⁶⁴Ni: possibility of production of no-carrier-added ⁶¹Cu and ⁶⁴Cu at a small cyclotron," *Int. J. Appl. Radi. Isot.* **44(3)**, 575-580 (1993).
7. R.B. Firestone, V.S. Shirley, C.M. Baglin, J. Zipkin, "Table of isotopes," 8th edition, John Wiley and Sons, New York, 1447 (1996).
8. A.B. Packard, "Synthesis and biodistribution of monocationic diiminedioxime copper complexes," *Nucl. Med. Biol.* **25**, 531-537 (1998).
9. A.B. Packard, "Lipophilic cationic copper complexes as PET radiopharmaceuticals," *Int. J. Labeled. Compd & radiopharm.* **40**, 484-486 (1997).

بررسی پایداری: پس از گذشت ۱۲ ساعت، هیچگونه تغییری در خلوص رادیوشیمیایی محلول کمپلکس نشاندار شده مشاهده نشده و این نشاندهنده پایداری کمپلکس رادیودارویی حاصل است.

تعیین اکتیویته ویژه: چنانچه A اکتیویته بکاررفته در فرمولاسیون (۳ mCi)، Ra بازده نشاندارسازی (۹۹ درصد) و M جرم مولکولی ماده مصرفی (۳۰۷ gr/mol) و W وزن آن (۳ μgr) باشد، اکتیویته ویژه A_s از رابطه زیر حساب می‌شود:

$$A_s = (A \times Ra \times M / W)$$

بنابراین اکتیویته ویژه برابر ۳۰۴ Ci/mmole خواهد بود.

۴- نتیجه گیری

مراحل کنترل کیفی محصول نشان داد که مس-۶۱ تولید شده توسط گروه تحقیقاتی ما، دارای ویژگیهای مناسب برای تهیه رادیوداروها است. پس از سنتز مولکول دارویی PTSM و تأیید ساختار مولکولی آن به روشهای طیفنگاری H NMR & Mass، نشاندارسازی آن با مس-۶۱ انجام گرفت؛ سپس مس آزاد شده که واکنش نداده بود، به روش استخراج فاز جامد از محلول نهایی جداسازی شد و رادیودارو با درصد خلوص قابل قبول (بالای ۹۹ درصد) بدست آمد. رادیوداروی حاصل پس از عبور از صافی میکروبی ۰/۲۲ میکرون، قابل تجویز به بیمار است و به سبب خلوص رادیوشیمیایی بالای ۹۹ درصد بدون حامل، و با اکتیویته ویژه ۳۰۴ Ci/mmole قابل ارسال به مراکز احتمالی درخواست کننده رادیودارو خواهد بود. مجموع مراحل نشاندارسازی و فرمولاسیون رادیودارو در حدود ۳۰ دقیقه به طول انجامید. با توجه به کاربرد گسترده رادیوداروهای ⁶⁷PET برای انجام بررسیهای کمی و کیفی کارکرد قلب، مغز و تومورها، رویکرد متخصصان به خرید و استفاده از دوربینهای PET و فراهم بودن امکانات لازم برای تولید بیشتر [Cu]-PTSM با بهترین شرایط به صورت قابل استفاده در کاربردهای بالینی، می‌توان این رادیودارو را مورد مناسبی برای انجام تحقیقات بیشتر در نظر گرفت.



19. A.B. Packard, J. F. Kronauge, E. Barbarics, S. Kiani, S. T. Treves, "Synthesis and biodistribution of a Lipophilic ^{64}Cu -labeled monocationic Copper(II) complex," *Nucl. Med. Biol.* **29**, 289-294 (2002).
20. R.S. Beanlands, O. Muzik, M. Mintun, T. Mangner, K. Lee, N. Petry, G.D. Hutchins, M. Schwaiger, "The kinetics of copper-62-PTSM in the normal human heart," *J. Nucl. Med.* **33(5)**, 684-90 (1992).
21. T.R. Wallhaus, J. Lacy, R. Stewart, J. Bianco, M.A. Green, N. Nayak, C.K. Stone, "Copper-62-pyruvaldehyde bis(N-methyl-thiosemicarbazone) PET imaging in the detection of coronary artery disease in humans," *J. Nucl. Cardiol.* **8(1)**, 67-74 (2001).
22. M. A. Green, M. J. Welch, C. J. Mathias, S. R. Bergmann, J. S. Perlmutter, M. E. Raichle, F. F. Rubio, M. Janik, "Copper-62-PTSM: Production and evaluation of a generator produced multi-purpose PET perfusion agent," *J. Nucl. Med.* **31**, 815 (1990).
23. C. J. Mathias, M. J. Welch, D. J. Perry, A. H. McGuire, X. Zhu, J. M. Connett, M. A. Green, "Investigation of copper-PTSM as a PET tracer for tumor blood flow," *Nucl. Med. Biol.* **18(7)**, 807-811 (1991).
24. M.A. Green, "A potential copper radiopharmaceutical for imaging the heart and brain: copper-labeled pyruvaldehyde Bis (N^4 -methylthiosemicarbazone)," *Nucl. Med. Biol.* **14(1)**, 59-61 (1987).
25. A. R. Jalilian, B. Fateh, M. Ghergherehchi, A. Karimian, M. Matloobi, S. Moradkhani, M. Kamalidehghan, "Preparation, distribution, stability and tumor imaging properties of [^{62}Zn]Bleomycin in normal and tumor-bearing mice," *Iran. J. Radiat. Res.* **1(1)**, 37-44 (2003).
26. B. A. Gingras, T. Suprunchuk, C. H. Bayley, "The preparation of some thiosemicarbazones and their copper complexes," Part III. *Can. J. Chem.* **40**, 1053-1057 (1962).
27. B. Pastakia, L.M. Lieberman, S.J. Gatley, D. Young, D.H. Petering, D. Minkel "Tissue distribution of copper-labeled 3-ethoxy-2-oxobutyaldehyde bis (thiosemicarbazone) (Cu-64 KTS) in mice and rats: concise communication," *J. Nucl. Med.* **21(1)**, 67-70 (1980).
10. M.E. Shelton, M.A. Green, C.J. Mathias, M.J. Welch, "Kinetics of copper-PTSM in isolated hearts: A novel tracer for measuring blood flow with positron emission tomography," *J. Nucl. Med.* **30(11)**, 1843-1847 (1989).
11. M. K. Bhalgat, J. C. Roberts, J. A. Mercer-Smith, B. D. Knotts, R. L. Vessella, D. K. Lavalley, "Preparation and biodistribution of copper-67-labeled porphyrins and porphyrin-A6H immunoconjugates," *Nucl. Med. Biol.* **24(2)**, 179-185 (1997).
12. I. Novak-Hofer, P. A. Schubiger, "Copper-67 as a therapeutic nuclide for radioimmunotherapy," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **29(6)**, 821-830 (2002).
13. G. L. DeNardo, S. J. DeNardo, R. T. O'Donnell, L. A. Kroger, D. L. Kukis, C. F. Meares, D. S. Goldstein, S. Shen, "Are radiometal-labeled antibodies better than iodine-131-labeled antibodies: comparative pharmacokinetics and dosimetry of copper-67-, iodine-131-, and yttrium-90-labeled Lym-1 antibody in patients with non-Hodgkin's lymphoma," *Clin. Lymphoma.* **1(2)**, 118-126 (2000).
14. A. B. Delaloye, B. Delaloye, F. Buchegger, C. A. Vogel, M. Gillet, J. P. Mach, A. Smith, P. A. Schubiger, "Comparison of copper-67- and iodine-125-labeled anti-CEA monoclonal antibody biodistribution in patients with colorectal tumors," *J. Nucl. Med.* **38(6)**, 847-853 (1997).
15. G.D. Robinson, F.W. Zielinski, A.W. Lee, "The zinc-62/copper-62 generator: a convenient source of copper-62 for radiopharmaceuticals," *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **31(2)**, 111-116 (1980).
16. O.P. Anderson, A.B. Packard, "Structural variations in macrocyclic copper (II)," *Inorg. Chem.* **18**, 1940-1947 (1979).
17. O. Obata, E. Yoshimi, A. Waki, J. S. Lewis, N. Oyama, M. J. Welch, H. Saji, Y. Yonekura, Y. Fujibayashi, "Retention mechanism of hypoxia selective nuclear imaging/radiotherapeutic agent Cu-diacetyl-bis(N^4 -methylthiosemicarbazone) (Cu-ATSM) in tumor cells," *Ann. Nucl. Med.* **15**, 499-504 (2001).
18. J. S. Lewis, J. M. Connett, J. R. Garbow, T. L. Buettner, Y. Fujibayashi, J. W. Fleshman, M. J. Welch, "Copper-64-pyruvaldehyde-bis(N^4 -methylthiosemicarbazone) for the prevention of tumor growth at wound sites following laparoscopic surgery: monitoring therapy response with micro PET and magnetic resonance imaging," *Cancer Res.* **62**, 445-449 (2002).