J. of Nuclear Sci. and Tech. مجله علوم و فنون هسته اي
شماره ۳۰، ۲۵ - ۳۰ ۱۳۸۲
No. 30, pp. 25-30, 2004

تهيّه كيت [^{131}I] متا يُدو بنزيل گوانيدين (^{131}I-MIBG)

علي ستّاري*
مركز تحقيقات كشاورزي و پزشكي هسته اي، سازمان انرژي اتمي ايران، صندوق پستي: ۴۹۸- ۳۱۴۸۵، كرج- ايران

چكيده: متا يدوبنزيل گوانيدين به عنوان هم فرمول "نوراپينفرين" با اتّصال به يُد راديوآكتيو به صورت ^{123}I-MIBG و ^{131}I-MIBG به ترتيب براي تشخيص و درمان اختلالات غدّة فوق كليوي، مانند فئوكروموسيتوما و نوروبلاستوما بكار رفته است. در اين كار پژوهشي روشي سريع براي توليد ^{131}I-MIBG عرضه شده است. متايدوبنزيل گوانيدين در مجاورت محلول سولفات مس به ^{131}I اضافه و به مدّت ۳۰ دقيقه در حمام آب جوش قرار گرفت. اساس اين كار بر مبناي واكنش جانشيني هسته دوست با حضور يون Cu^{+1} و عوامل احياكنندة كمكي با حرارت دادن محيط واكنش استوار است. براي تنظيم pH و همتنش كردن محلول از بافر سيترات استفاده شد. در اين روش، درجة خلوص راديوشيميايي بيش از۹۰% بدست آمد. برتري اين روش كه آن را نسبت به روشهاي ديگر متمايز كرده است سهولت تهيّه و كنترل سريع آن در مراكز پزشكي هسته اي است.

واژه هاي كليدي: *گوانيدين، يدراديوآكتيو، يددارکردن، واكنش هسته‌دوست*

Fast Preparation of ^{131}I-MIBG

A. Sattari*
Nuclear Research Center for Agriculture and Medicine, AEOI, P.O.Box: 31485 - 498, Karaj - Iran

Abstract: Meta-iodobenzylguanidine (MIBG) is used for the diagnostic scintigraphy and therapy of adneral tumors such as pheaeochromocytoma and neuroblastoma, as well as for the scintigrphic 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 ≥90% is obtained between 95-100^{o}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*

تاريخ دريافت مقاله: ۱۳۸۲/۲/۷ تاريخ پذيرش مقاله: ۱۳۸۲/۱۰/۱۷
*email: asattari@nrcam.org

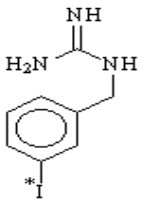
۱- مقدمه

غدد فوق كليوي، كه جرم هر يك تقريباً ٤ گرم است، در سطح فوقاني دو كليه قرار گرفته و از دو قسمت مجزّاي مغزي (medulla) و قشري (cortex) تشكيل شده اند. قسمت مغزي به سيستم عصبي مرتبط بوده و هورمون‌هاي اپينفرين و نوراپينفرين را در پاسخ به تحريك‌هاي سمپاتيك تراوش مي‌كند و قسمت قشري كورتيكواستروئيدها را ترشّح مي‌نمايد [۱]. در دهه ۷۰ دريافتند كه گوانيدين به عنوان عامل مسدودكنندة اعصاب آدرنرژيك (كه موجب ترشّح آدرنالين مي‌شوند) به طور انتخابي عمل مي‌كند و در قسمت مركزي غدد فوق كليوي جمع مي‌شود. با توجّه به اينكه اين تركيب را نمي‌توان با يُد نشاندار كرد، فراسنجهاي[۱] متعدّدي با هم تركيب و مورد بررسي قرارگرفتند، كه از ميان آنها متايُدوبنزوگوانيدين بهترين پاسخ را در نشاندارشدن با يُد و تجمّع آن در غدّه فوق كليوي داده است.

متايُدوبنزيل گوانيدين (MIBG)[۲] به عنوان هم فرمول نوراپينفرين به صورت ^{123}I-MIBG و ^{131}I-MIBG به ترتيب براي تشخيص و درمان اختلالات غدّه فوق كليوي، از جمله "فئوكروموسيتوما" و "نوروبلاستوما" مورد استفاده قرار گرفته است [۵- ۲]. اخيراً ازاين تركيب براي ارزيابي عملكرد عصب آدرنرژيك در عضله قلب استفاده مي‌شود [۹- ٦]. دو روش عمده براي نشانداركردن مولكول MIBG به وسيلة يُد راديوآكتيو گزارش شده است. روش اوّل واكنش جانشيني در فاز جامد با استفاده از سولفات آمونيوم [۱۰و۱۱] و روش دوّم واكنش جانشيني هسته دوست با ايجاد Cu^{+1} در محيط واكنش است [۱۵- ۱۲]. پس از مطالعه اين روشها، روش دوّم به عنوان روشي سريع، با درجة خلوص بالاتر به عنوان روش مناسبتر برگزيده شد. در اين روش به كمك Cu^{+1} در محيط، واكنش جانشيني با تشكيل مادّة واسط صورت مي‌گيرد. شكل ۱ نماي سادة واكنش و شكل۲ مولكول *I-MIBG را نشان مي‌دهد [۱۰ ۲۵].

$$ArY + Cu^{+1} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} Ar\overset{Y}{:}_{Cu^{+1}} + I^{*} \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} Ar\,I^{*} + Cu^{+1} + Y$$

شكل۱- نماي سادة راديو يُدداركردن آريل هاليدها. Y نمايانگر هاليد، I* نمايانگر يُد راديوآكتيو (^{131}I) كه ممكن است يك هاليد آكتيو نيز باشد.



شكل ۲- مولكول *I-MIBG

۲- مواد و محلول‌هاي مورد مصرف

MIBG تهيّه شده از شركت SIGMA يد_۱۳۱ تهيّه شده در مركز تحقيقات هسته‌اي سازمان انرژي اتمي ايران

براي انجام دادن آزمايش سه نوع محلول مورد نياز بود:

- محلول مس، شامل ۳۲/۵ ميلي‌گرم سولفات مس در ۱۰cc آب دوبار تقطير شده
- محلول حامل حاوي: ۱/۵ mg سولفات قلع، ٤٤ mg اسيد سيتريك، ۲۰ ميلي‌گرم ۲- ۵ دي هيدروكسي بنزوئيك اسيد در ۲ cc آب دو بار تقطير شده
- محلول يد ۱۳۱، به صورت ۵ mCi/ml $Na^{131}I$

۳- روش آزمايش

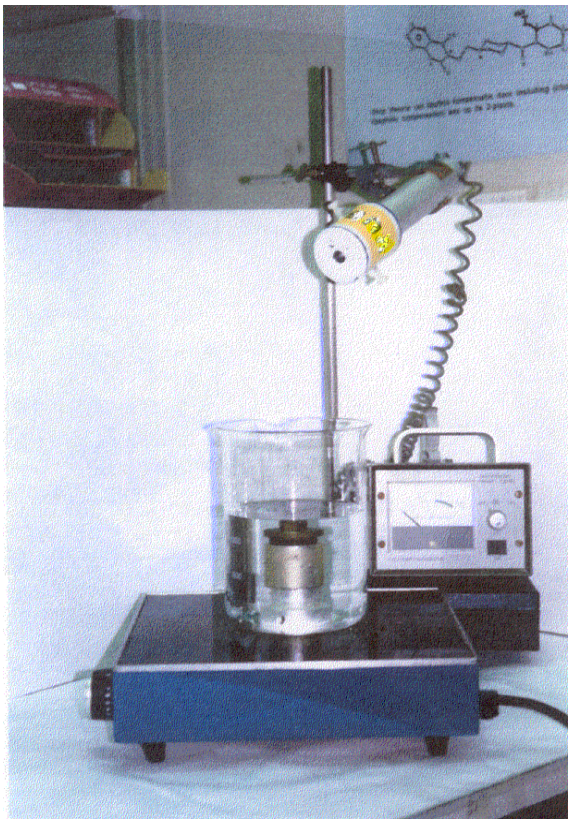
در يك ويال ۵ ميلي‌ليتري ويژة واكنش[۳]، ۱ ميلي‌گرم MIBG، ۵۰۰ ميكروليتر محلول حامل، ۳۰۰ ميكروليتر محلول سولفات مس و ۱ ميلي‌ليتر محول حاوي ٦ ميلي كوري يد- ۱۳۱ به آن اضافه كرده و آن را با درپوش پلاستيكي و آلومينيومي كاملاً بسته‌ايم و محلول را به وسيلة سرنگ به مدّت ۵ دقيقه در معرض گاز نيتروژن قرار داده‌ايم، سپس ويال را درون

محفظه‌اي (شكل ۳) كه آماده كرده بوديم گذاشته و آنرا به مدّت ۳۰ دقيقه در حمام آب جوش قرار داده‌ايم و با يك آشكارساز در تمام مدّت آزمايش امكان آلودگي را كه بر اثر متصاعد شدن بخار يُد ممكن بود به وجود آيد بررسي وكنترل كرده‌ايم (شكل ٤). آزمايش كلاً درون يك هود با حفاظ سربي (شكل ٥) انجام گرفته است.

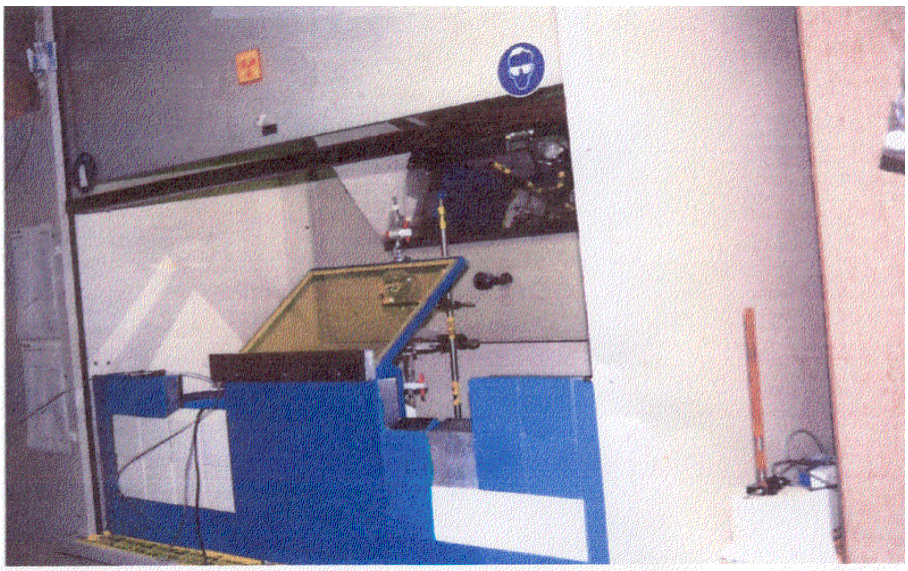
براي هم‌تنش[٤] كردن محلول و تنظيم pH آن لازم بود كه محلولي تهيّه شود تا علاوه بر سازگاري با همتافت[٥] حاصل، pH محلول را به سوي pH فيزيولوژيكي سوق دهد.

شكل ۳- ويال واكنش به همراه ظرف آلومينيومي محافظ

هم‌تنش كردن، بر مبناي تعيين مقدار بر اساس نزول نقطه انجماد صورت گرفت.



شكل ٤- چگونگي مونيتورينگ مداوم واكنش



شكل ٥- تصوير هود سربي كه مراحل آزمايش در آن انجام گرفت

جدول ١- غلظت و نزول نقطه انجماد مواد مختلف در محلول

مواد حامل	مقدار مواد (ميلي گرم)	غلظت (C)	جرم مولكولي (گرم)	Δt نزول نقطه انجماد ^oC
اسيد سيتريك	٤٤	٠/٨٨	٢١٠	٠/١٣٦
٢-٥ دي هيدروكسي بنزوئيك اسيد	٢٠	٠/٥٠	١٥٤	٠/١٠٥
سولفات قلع	١/٦	٠/٠٤	٢١٥	٠/٠٠٦
MIBG	١	٠/٠٢	٣٢٧	٠/٠٠٢
$Na^{131}I$ (٠/٠١ مولار)	٤/٦	٠/١٦	١٥٩	٠/٠٣٢

براي اين منظور با مطالعة مراجع مختلف، سيترات سديم مادّه مناسبي به نظر رسيد [١٣]؛ غلظتهاي مواد مختلف محلول در جدول ١ مندرج است.

$\Delta t = -34/2 \times C/Mw$ معادله محاسبه نزول نقطه انجماد.

مجموع Δt برابر ٠/٢٨١ درجه سانتيگراد و مقدار نزول نقطه انجماد مورد نياز ($0/239^oC$ = ٠/٥٢ - ٠/٢٨١)

Δt = -٠/٥٢: نزول نقطه انجماد محلول همتنش

-٠/٥٢ : نقطه انجماد محلول ٠/٩% كلرورسديم

C: غلظت (گرم در ١٠٠ سانتيمتر مكعب محلول)

Mw: جرم مولكولي (گرم)

بر اين اساس، مقدار محلول سيترات بافر ٨٦ ميليگرم بدست آمد كه در ١ سانتيمتر مكعب محلول بافر به محلول اصلي اضافه شد و در نتيجه pH محلول به ٤/٧ رسيد. محلول نهايي در شرايط استريل شدن، و با گذراندن از صافي ٠/٢٢ ميكروني در يك ويال استريل شده گردآوري شد.

٤- نتايج

براي پيبردن به درستي عمل نشاندارسازي، كنترلهاي شيميايي و راديوشيميايي و راديوهستهاي موردنياز بود. چون راديوايزوتوپ مورد نياز در مركز تحقيقات سازمان توليد شده بود، كنترل راديوهستهاي بر روي آن انجام گرفته و مورد تأييد بود. كنترل شيميايي و راديوشيميايي به منظور تأييد صحت كار براي ما نيز بسيار مهم بود.

٤-١ *خلوص شيميايي و راديوشيميايي*

مقادير I_2 و I^- موجود در محلول، به عنوان مهمترين ناخالصي راديوشيميايي مورد توجّه است. چون يُد وارد شده در تشكيل همتافت بايد به صورت I-MIBG به بافت هدف (بافت تومورال) برسد، به منظور جلوگيري از تجمع يُد راديوآكتيو در تيروئيد و صدمات ناشي از پرتوتابي آن، ضروريست كه مقادير يُد آزاد و يدور موجود در فرآورده تعيين شوند. چون روش استاندارد مشخّصي در توليد I-MIBG گزارش نشده روشهاي كنترل متنوّعي در منابع مختلف بيان شده است. روش بكار رفته براي كنترل اين كيت كه از روشهاي Wafelman (1994) and Merten (1985) اقتباس شده [١٥ و ١٦]، در جدول ٢ مندرج است.

با كنترل اين روشها، مقدار تشكيل ^{131}I-MIBG بيش از ٩٠% و مقادير تشكيل يُد و يدور به ترتيب

کمتر از ۱ درصد و ۱۰ درصد بدست آمد.

با مطالعة منابع مختلف و انجام دادن آزمایشهاي تجربي به این نتیجه رسیدیم که براي تشکیل همتافت با روش موردنظر، استفاده از حمّام آب جوش ضروریست [۱۳ و ۱٤ و ۱۵]. مقدار درصد تشکیل همتافت و رابطة آن با دماي اعمال شده در جدول ۳ مندرج است.

٤-۲ *محاسبه آکتیویته ویژه*

اگر مقدار آکتیویته بکار رفته در محلول mCi/ml ٦ = A، بازده نشاندارسازي ۹۰% = Ra، جرم مولکولي MIBG برابر ۳۲۷ mg = M و جرم مادة مصرفي mg ۱ = W باشد، آکتیویتة ویژه چنین حساب مي‌شود 10^{-6} (A×Ra×M/W) = As مقدار آکتیویتة ویژه معادل ۱/٤۷ mCi/mmol خواهد بود.

TLC	فاز متحرك فازثابت	R_f
1	propanol 1:3 سیلیکاژل ۲۸ ,10%NH_4OH	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_2O Sep-pak	I_2 از ستون خارج شدMIBG در ستون ماند تا در مرحله بعدي با متانول خارج شود

جدول ۲- روشهاي کروماتوگرافي بکار گرفته شده در آزمایشگاه

یدهیدروا کسید Sn^{+2} به Sn^{+4} بکار مي رود. چون این کیت به منظور مصرف در مراکز پزشکي هسته‌اي مورد نظر است، چنین ایجاب مي‌کند که کنترل کیفیت در مورد آن با سرعت و سادگي هر چه بیشتر در محل مصرف اجرا شود. کنترل کیفیت به وسیلة کروماتوگرافي روي لایه نازك و کروماتوگرافي ستوني با استفاده از Sep-pak روش ساده و سریعي است که استفاده از آن نیاز به تخصّص خاصي ندارد. علاوه براین، روشي است کم هزینه که به آساني در هر آزمایشگاه یا مرکز پزشکي هسته‌اي قابل اجرا مي‌باشد.

۵- بحث و نتیجه‌گیري

قلع (Sn) در محیط اسیدي به Sn^{+} تبدیل مي‌گردد و این امر باعث احیاي CU^{++} به CU^{+} مي‌شود. CU^{+} با شرکت در تشکیل مادّه حدّ واسط (Complex 1)، واکنش شکل ۱ را به سوي تشکیل I-MIBG سوق مي‌دهد؛ در این شرایط یدوري که در محیط محلول وجود دارد ممکن است به I_2 احیا شود؛ براي جلوگیري از تشکیل I_2 باید احیا کننده مناسبي در محیط عمل موجود باشد. ژنتیسیك اسید یا اسکوربیك اسید به عنوان احیاکننده و عامل کاهندة pH، براي جلوگیري از تبدیل بر طبق منابع موجود، تصوّر بر این است که با استفاده از محلول یُد خالص (بدون پاداکسیدان) با آکتیویته ویژه بالا، بازده عمل نشاندارکردن از ۹۹% تجاوز کند [۱۳ و ۱٤ و ۱۵].

چون این کیت پس از تهیّه بي‌درنگ به مصرف مي‌رسد آزمایش پایداري دربارة آن ضروري نیست. براي استریل کردن، محلول نهایي باید با عبور از صافي ۰/۲۲ میکرون در شرایط استریل درون یك ویال استریل قرار گیرد. تهیّه این کیت با استفاده از بافر بکار رفته، براي هر تعداد بیمار نیازمند به آن میسّر است، و این امراز مزایاي دیگر این روش به شمار مي‌رود.

جدول-۳ درصد تشکیل همتافت و رابطه آن با دماي اعمال شده

دماي اعمال شده (°C)	۲۰	۳۰	٤۰	٦۰	۹٥
درصد تشکیل همتافت	٥	٥	۸	۳٥	۹۰

پي‌نوشت‌ها :

۱ – Analogs
۲ – Meta-iodobenzyl-guanidine
۳ – Reaction vial
٤ – Isotonic
٥ – 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 ^{131}I and ^{123}I metaiodobenzoguantidine for diagnosis and treatment of pheochoromocytoma," 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 ^{123}I-MIBG in the failing human heart," J. Nucl. Med. **40**, 224-237 (1999).

9. A. Satoh and T. Serita, "Loss of ^{123}I-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. Lambrechet, "An efficient batch preparation of high specific activity of ^{123}I and ^{124}I-MIBG," Appl. Radio. Iso. **54**, 711-714 (2001).

12. R. F. Verbruggen, "Fast high-Yield labeling and quality control of ^{123}I -and ^{131}I-MIBG," Appl. Radio. Iso. **44**, 621-628 (1993).

13. J. Mertens and W. Vanryckeghen, "New fast preparation of ^{123}I labeled radiopharmaceuticals," Eu. J. Nucl. Med. **13**, 380-381 (1987).

14. J. Mertens and W. Vanryckeghen, "Fast kit labeling: New future for pure^{123}I 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 rewie," Appl. Radio. Iso. **45**, No. 10, 997-1007 (1994).