ORIGINAL ARTICLE

In vitro/In vivo Study of a New Bombesin Derivative with Tripeptide (Gly-Gly-Gly) Spacer as Potential Targeted Tumor Imaging Agent

Mohammad Hasankhah[1],
Iman Emrarian[2],
Nourollah Sadeghzadeh[3],
Seyed Mohammad Abedi[4]

[1] Pharmacy Student, Faculty of Pharmacy, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] PhD Student in Radiopharmacy, Faculty of Pharmacy, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Radiopharmacy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Radiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received April 17, 2016 ; Accepted July 19, 2016)

Abstract

Background and purpose: Bombesin is a 14-amino acid peptide with high biological functions which has a high affinity to GRP (Gastrin releasing peptide) receptor. GRP receptors are overexpressed in many malignant tumors such as prostate and breast cancers. The purpose of this study was to prepare [HYNIC-$(Gly)_3$-D-Phe^{13}]Bombesin(7-14) to label it easily by ^{99m}Tc and to evaluate it as a potential agent for imaging the tumors that have GRP receptors.

Materials and methods: In this experimental study, the prepared derivative Bombesin was radiolabelled by ^{99m}Tc at 100°C in 10 minutes using the exchange method and radiolabelling analysis was applied by TLC and HPLC. Specific absorption test and specific internalization using prostate cancer cells PC-3 was done by blocking and unblocking the receptors. Biodistribution were determined in normal mice.

Results: More than 95% radiolabelling was obtained. Specific absorption and internalization after 4 hours were 17.9% and 9.5%, respectively in PC-3 cancer cells. Biodistribution data showed rapid clearance from blood with major renal excretion and specific binding to tissues that have GRP receptors such as pancreas.

Conclusion: Conjugated peptide radiolabelled with ^{99m}Tc has promising characteristics as potential agent for imaging the tumors that overexpress the GRP receptors.

Keywords: Bombesin, ^{99m}Tc, GRP receptors, tumor, imaging

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(140): 15-23 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-12]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۴۰ شهریور سال ۱۳۹۵ (۲۳-۱۵)

مطالعه درون تنی و برون تنی مشتق جدیدی از بومبزین با فاصله دهنده تری گلایسین به عنوان عامل بالقوه در تصویربرداری هدفمند تومور

محمد حسن خواه[۱]
ایمان امراریان[۲]
نورالله صادق زاده[۳]
سیدمحمد عابدی[۴]

چکیده

سابقه و هدف: بومبزین یک پپتید ۱۴ اسیدآمینه ای با فعالیت بیولوژیکی زیاد است که تمایل بالا به گیرنده‌های GRP دارد.گیرنده‌های GRP در تومورهای بدخیم مختلفی ازقبیل پروستات وسینه به میزان بالا بیان می‌شود. هدف از این مطالعه آماده کردن[HYNIC-(Gly)$_3$-D-Phe^{13}-]Bombesin(7-14) بوده است که بتواند به آسانی با ^{99m}Tc نشان دار شود و به عنوان یک عامل بالقوه تصویربرداری برای تومورهای دارای گیرنده GRP ارزیابی گردد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی که درسال ۹۴ در دانشکده دارسازی انجام شده است مشتق بومبزین آماده شده با ^{99m}Tc در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه به روش تبادلی نشان دار شد وآنالیز رادیوشیمیایی به‌وسیله TLC و HPLC انجام شد.آزمایش جذب و اینترنالیزیشن اختصاصی با استفاده از سلول‌های سرطانی پروستات PC-3 با گیرنده‌های بلاک شده و بلاک نشده انجام شد. توزیع بیولوژیکی در موش‌های سالم انجام گردید.

یافته‌ها: نشان دارسازی بالای ۹۵ درصد به دست آمد. جذب اختصاصی و اینترنالیزیشن اختصاصی بعد از ۴ ساعت به ترتیب ۱۷/۹ درصد و ۹/۵درصد در سلول‌های سرطانی PC-3 بود.داده‌ها توزیع بیولوژیکی یک کلیرانس سریع از خون با دفع عمده کلیوی و اتصال اختصاصی به بافت دارای گیرنده GRP از قبیل پانکراس را نشان داد.

استنتاج: کونژوگه پپتیدی نشان دار شده با ^{99m}Tc ویژگی‌های امید بخشی را به عنوان عامل بالقوه تصویربرداری برای تومورهای بیان کننده بالای گیرنده های GRP دارد.

واژه های کلیدی: بومبزین،^{99m}Tc،گیرنده GRP، تومور، تصویر برداری

مقدمه

پپتید آزاد کننده گاسترین (GRP) یک نوروپپتید ۲۷ آمینواسیدی است که هومولوگ یک پپتید ۱۴ اسید آمینه به نام بومبزین (BN) استخراج شده از پوست وزغ (bombina bombina) در پستانداران می‌باشد. GRP به طور انتخابی به گیرندهGRP متصل می‌شود. این نوروپپتید با بومبزین درتوالی c-ترمینال آمیدی در هفت آمینو اسید

مولف مسئول: نورالله صادق زاده– ساری:کیلومتر۱۸ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، دانشکده داروسازی E-mail: nourollahsadeghzadeh@yahoo.com
۱. دانشجوی دکتری داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجوئی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشجوی دکتری تخصصی داروسازی هسته ای، کمیته تحقیقات دانشجوئی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. استادیار، گروه داروسازی هسته ای، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری ، ایران
۴. استادیار، گروه رادیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۱/۲۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۵/۲/۴ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۴/۲۹

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-12]

پایانی یکسان می‌باشد(۱). نمونه‌های انسانی گیرنده GRP در غلظت‌های زیادی روی غشاهای سلولی سرطان پروستات بیان می‌شوند، در حالی که بافت نرمال پروستات و در بیش‌تر نمونه‌ها، هایپرپلازی خوش خیم پروستات اغلب گیرنده GRP منفی هستند(۲). علاوه بر سرطان پروستات، گیرنده GRP در چندین نوع تومورهای انسانی دیگر افزایش بیان دارد که شامل سرطان سینه، روده بزرگ، ریه، تخمدان، کلیه و سیستم عصبی مرکزی می‌باشد(۳). به این دلیل آنالوگ‌های GRP می‌توانند به عنوان ردیاب‌های مولکولی در تصویربرداری و درمان تومورهای سرطان پروستات وسایر سرطان های دارای این گیرنده با اتصال به عوامل رادیواکتیو مورد استفاده قرار گیرند(۱). آنالوگ‌های بومبزین سنتزی می‌توانند براساس ساختارشان به دو نوع متفاوت طبقه‌بندی شوند. آنالوگ‌های نوع A کوتاه شده و تنها دارای یک بخش‌اند، معمولاً توالی ۱۴-۷ در انتهای C بومبزین برای شناسایی گیرنده و عملکردهای زیستی ضروری می‌باشد. از سویی دیگر، آنالوگ‌های نوع B در توالی کامل سنتز می‌شوند. در این آنالوگ‌ها معمولاً یک یا چند اسید آمینه به‌طور انتخابی جایگزین می‌شوند(۱). آنالوگ نوع A به طور کلی مطلوب‌تر به نظر می‌رسد چرا که نسبت به‌طول کامل پپتید ۱۴ اسیدآمینه‌ای نوع B برای کاربردهای (در داخل موجود زنده) با ثبات‌تر است و همیشه به طور شایسته‌ای به گیرنده GRP متصل می‌شود. برای نشان دار کردن آنالوگ‌های GRP با مواد رادیواکتیو به‌طور کلی مولکول‌های زیستی به‌گونه‌ای طراحی می‌شوند که جایگاه اتصال مواد رادیواکتیو (Labelling site) از جایگاه اتصال به گیرنده فاصله داشته باشد(۱). استفاده بسیار گسترده از رادیونوکلئیدها درکاربردهای تشخیصی، توجه زیادی را به توسعه مشتقات بومبزین نشان‌دار شده با ^{99m}Tc به وسیله انواع مختلفی از شلاته‌کننده‌ها، توالی‌های پپتیدی و گروه‌های فضایی معطوف ساخته است. چندین شلاته‌کننده مانند DADT (diaminedithiol)، N_3S (triamidethiol)، N_4 (tetraamine) و MAG_3 (Mercaptoacetyl triglycine) برای نشان‌دار کردن آنالوگ‌های BN/GRP با ^{99m}Tc مورد استفاده قرار گرفته‌اند(۴).

۲- هیدرازینونیکوتین امید(HYNIC) یک لیگاند شلات کننده دو منظوره است که در سال‌های اخیر در طراحی و توسعه رادیو داروهای بر پایه تکنسیوم و رینیوم توجه علاقه‌مندان زیادی را به خود جلب کرده است(۵). HYNIC تنها بخشی از احتیاجات کوئوردینانسی رادیوایزوتوپ را برآورده می‌سازد و کولیگاندهای اضافی برای تکمیل فضای کوئوردینانسی باید به آن بپیوندند. دو مورد از کولیگاندهایی که به طور گسترده‌تری مورد استفاده قرار گرفته‌اند، تریسین (tricine) و اتیلن دی آمین دی استیک اسید (EDDA) هستند. EDDA کمپلکس‌هایی را تشکیل می‌دهد که پایداری و مقاومت را هم در شرایط درون تنی (invivo) و هم در شرایط برون تنی (in vitro) نشان می‌دهند(۶). بومبزین پایداری پایین در in vivo و تجمع در ناحیه شکم دارد و از طرفی دفع از ناحیه کبدی– صفراوی دارد. به همین دلیل تلاش‌های زیادی برای طراحی و توسعه مشتقات بومبزین جهت افزایش پایداری با بهبود هدف قرار دادن تومور و ویژگی های فارماکوکینتیک مناسب انجام شده است از قبیل بهینه سازی با شلات‌کننده‌های مختلف، معرفی و جایگزینی اسیدهای آمینه و مهم‌تر از آن استفاده از اتصال‌دهنده یا جداکننده می‌باشد(۱۱-۷).

در مطالعه قبلی ما [HYNIC-(Gly)$_3$-D-Phe^{13}]-BBN (7-14) NH_2 با ^{99m}Tc نشان‌دارسازی گردید و خلوص رادیو شیمیایی بالای ۹۵ درصد به دست آمد و پایداری بالا درسالین و سرم انسانی را نشان داد(۱۲). دراین مطالعه پس از نشان‌دارسازی [HYNIC-(Gly) $_3$-D-Phe^{13}]-BBN (7-14) NH_2، با ^{99m}Tc، مطالعه سلولی و وتوزیع بیولوژیکی در موش سالم مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

مطالعه تجربی حاضر در سال ۹۴ در دانشکده داروسازی انجام شده است.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-12]

مواد ودستگاه

کونژوگه پپتیدی با HYNIC طراحی شدو توسط شرکت Peptron در کشور کره سنتز شد و به وسیله RP-HPLC و طیف سنجی جرمی با خلوص بالای ۹۵ درصد مشخص شد. مواد شیمیایی شامل تریسین، اتیلن دی آمینودی استیک اسید (EDDA)، تری فلوئورواستیک اسید از شرکت Fluka و ۲- بوتانون، سدیم سیترات، آمونیوم استات، متانول و کلروقلع از شرکت Merk تهیه شد. محیط کشت سلولی، RPMI1640 با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها و پنی‌سیلین/ استرپتومایسین از Gibco بود. سدیم پرتکنتات از ژنراتور تهیه شده توسط سازمان انرژی اتمی ایران به دست آمد. اکتیویته توسط دوز کالیبراتور مدل Capintec CRC-127R ساخت کشور آمریکا اندازه‌گیری شد. ارزیابی رادیوشیمیایی با استفاده از TLC توسط دستگاه Lablogic mini-scan TLC scanner ساخت کشور انگلستان و RP-HPLC مدل Knauer ساخت کشور آلمان مجهز به دتکتور Bioscan,INC مدل B-FC-3200 ساخت کشور آمریکا انجام شد. ستون 250/4.6 Knauer Earospher100 5C18 استفاده شد.

نشان دار سازی با استفاده از تریسین و EDDA به روش تبادل لیگاند

به محلول حاصل از ۴۰ میکروگرم پپتید [HYNIC- (Gly) $_3$-D-Phe^{13}]-BBN (7-14) NH_2، ۱۵ میلی‌گرم تریسین و ۵ میلی‌گرم EDDA در ۰/۵ میلی‌لیتر آب، ۴۰ میکروگرم $SnCl_2$ (۲۰ میکرولیتر از 2 mg/ml $SnCl_2$, $2H_2O$ در 0.1 M HCl) اضافه‌گردید. پس از اضافه کردن ۳۷۰ تا ۱۴۸۰ مگا بکرل پرتکنتات سدیم در ۰/۵ میلی‌لیترسالین به این محلول، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد(۱۲).

ارزیابی خلوص رادیوشیمیایی

کروماتوگرافی لایه نازک روی نوارهای سیلیکاژل با استفاده از ۳ حلال انجام شد. برای تعیین میزان پرتکنتات آزاد ($^{99m}TcO4^-$) از حلال ۲- بوتانون استفاده شد که پرتکنتات آزاد در این حلال دارای R_f برابر ۱ بوده و پپتید نشان دار، تکنسیوم کلوئید ($^{99m}TcO_2$) و تکنسیوم کولیگاند آزاد همگی دارای R_f برابر صفر هستند. جهت تعیین پرتکنتات آزاد همراه با تکنسیوم کولیگاند آزاد که به پپتید باند نشده است از حلال ۰/۱ مولار سدیم سیترات با pH برابر ۵ استفاده گردید که پپتید نشان دار و تکنسیوم کلوئید دارای R_f برابر صفرو پرتکنتات آزاد همراه با تکنسیوم کولیگاند آزاد دارای R_f برابر ۱ می‌باشند. برای تعیین میزان تکنسیوم کلوئید ایجاد شده از حلال متانل و آمونیوم استات ۱ مولار به نسبت ۱ به ۱ استفاده شد که دراین حلال تکنسیوم کلوئید دارای R_f برابر صفر و پپتید نشان دار، پرتکنتات آزاد و تکنسیوم کولیگاند باند نشده به پپتید همگی دارای R_f برابر ۱ می‌باشند. رادیواکتیویته توسط TLC scanner اندازه‌گیری شد. کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا (RP-HPLC) برای کونژوگه‌های پپتیدی باسیستم گرادیانی شامل تری فلوئورو استیک اسید ۰/۱ درصد در آب (حلال A) و استونیتریل (حلال B) سرعت حلال ۱ میلی لیتر در دقیقه استفاده شد(۱۲).

تعیین جذب اختصاصی

ابتدا رده سلولی PC-3 دارای بیان بالای گیرنده GRP از انستیتو پاستور خریداری شد و پس از چند بار تعویض محیط کشت، فلاسک‌های حاوی سلول توسط میکروسکوپ اینورت مشاهده شد و از نظر عدم آلودگی و پوشاندن کامل کف فلاسک بررسی گردید و برای پاساژ دادن آماده شد.به این ترتیب که محیط کشت رویی به طور کامل تخلیه و سلول‌ها با بافر فسفات شستشو داده شدند. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول تریپسین EDTA به سلول‌ها اضافه شد. فلاسک به مدت ده دقیقه به انکوباتور برگردانده شد تا آنزیم اثر کرده و سلول‌ها از کف جدا شوند. فلاسک از انکوباتور خارج شد. با کف دست به کناره‌های آن ضربه وارد گشت و توسط میکروسکوپ اینورت برای حصول اطمینان از جدا شدن

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-12]

سلول ها از فلاسک چک گردید و ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت کامل برای غیر فعال کردن تریپسین اضافه شد. سپس با پیپت مخلوط سلول‌ها را بالا پایین کرده تا سوسپانسیون یکنواخت سلولی حاصل شود. پس از آن مقداری از سوسپانسون سلولی به فلاسک دیگری انتقال یافت. فلاسک‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه قرار گرفت.به فاصله چند روز سه مرتبه عملیات پاساژ دادن برای به دست آوردن ۱۸ میلیون سلول تکرار شد.برای شمارش سلول‌ها لام نئوبار مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا محیط کشت فلاسک خارج گردید. برای خارج کردن سلول‌های مرده شستشو توسط محیط کشت انجام شد. پس از اضافه کردن تریپسین و اندکی محیط کشت، سوسپانسیونی از سلول‌ها ایجاد شد. بعد از تکان دادن سوسپانسیون ده میکرولیتر از آن به لام نئوبار آماده، انتقال یافت. سپس سلول‌های هر چهار خانه مربعی شمرده و میانگین گرفته شد. با ضرب کردن عدد ۱۰۰۰۰ در میانگین، تعداد سلول در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون به دست آمد. پس از شمارش سلول‌ها به هریک از پلیت‌های شش خانه‌ای تعداد ۱ میلیون سلول اضافه شد و حجم نهایی پلیت به ۴ میلی‌لیتر رسید و به مدت یک شب در انکوباتور ۵ درصد CO_2 در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. روز بعد محیط کشت از پلیت‌های ۶ چاهکی شامل ۱ میلیون سلول در هر چاهک را برداشته شد و سلول ها یک بار با ۲ میلی‌لیتر محیط کشت مناسب با ۱ درصد سرم جنین گاوی شسته شد. به علاوه ۱/۵ میلی لیتر محیط کشت مناسب (۱۰ درصد سرم جنین گاوی) به هر چاهک اضافه شد و پلیت‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس ۲/۵ پیکومول پپتید نشان دار به همه شش چاهک حاوی محیط کشت اضافه گردید و سلول‌ها در زمان های نیم،یک، دو و چهار ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند. برای تعیین جذب غیر اختصاصی، اختصاصی سلول‌ها با رادیو لیگاند در حضور ۱۵۰ میکرو لیتر پپتید سرد با غلظت ۱ میکرو مول در میلی‌لیتر نگهداری شدند(۳ خانه بالای هر پلیت). جذب سلولی در دوره‌های زمانی ذکر شده به وسیله برداشت محیط کشت و با دو بار شستن توسط PBS متوقف گردید. سر انجام سلول‌ها با سود ۰/۱ نرمال شستشو داده شد. حاصل شستشو در ۳ خانه بالائی و پایینی در لوله های مربوطه جمع‌آوری گردید و لوله‌ها در دستگاه گاماکانتر شمارش شد. با داشتن اکتیویته استاندارد (شاهد)، اکتیویته کل و اکتیویته غیر اختصاصی میزان جذب اختصاصی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

تعیین میزان ورود به سلول(Internalization)

در ادامه کار جذب اختصاصی، پس از دوبار شستشو توسط PBS جهت توقف جذب سلولی مجدداً دو بار شستشو به‌مدت ۱۰ دقیقه توسط بافر گلایسین (PH 2.5) انجام شد. این مرحله بین جذب غشایی (رها شدنی توسط اسید) و وارد شده به داخل سلول (مقاوم به اسید) از رادیولیگاند وجه تمایز قائل می‌گردد. سرانجام سلول‌ها با سود ۰/۱ نرمال شستشو داده شدند. حاصل شستشو در هر مرحله در لوله‌های مربوطه جمع‌آوری شد و لوله‌ها در دستگاه گاماکانتر شمارش گردید. با داشتن اکتیویته استاندارد (شاهد)، اکتیویته کل وارد شده و اکتیویته غیر اختصاص میزان اینترنالیزیشن اندازه‌گیری شد.

توزیع بیولوژیکی

برای بررسی توزیع بیولوژیکی، پپتید نشان دار به حجم ۱۰۰ مایکرولیتر از طریق دم به موش نر سالم تزریق گردید. جهت تعیین جذب غیر اختصاصی از رادیو پپتید در ارگان‌ها با گیرنده مثبت، به یک گروه سه تایی از موش سالم ۱۰۰ میکروگرم پپتید سرد در ۵۰ میکرولیتر سالین همراه با رادیو پپتید تزریق شد (حیوانات بلاک شده). بعد از ۱، ۴ و ۲۴ ساعت موش‌ها در گروه‌های سه تایی کشته وارگان‌های مورد توجه جمع‌آوری شدند و رادیواکتیویته در گاما کانتر اندازه‌گیری شد. درصد دوز تزریق شده در هرگرم بافت (ID/g درصد) محاسبه گردید.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-12]

آنالیز آماری

محاسبه میانگین‌ها و انحراف استانداردها برای اینترنالیزیشن و توزیع بیولوژیکی با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شدند. t-test برای تعیین آمار معنی‌دار استفاده گردید. اختلاف‌ها با ضریب اطمینان ۹۵ درصد (p<۰/۰۵) معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

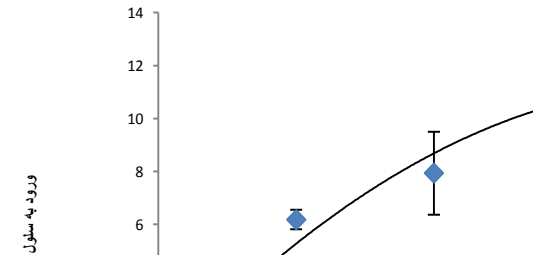
نتایج از سنجش برون تنی از رادیو پپتید در سلول‌های PC-3، جذب اختصاصی ۱۷/۵ درصد بعد از ۴ ساعت و اینترنالیزیشن اختصاصی و سریع از ۳/۲ درصد در۰/۵ ساعت به ۱۱/۴درصد در ۴ ساعت را نشان داد. هم‌چنین اختلاف معنی‌دار و قابل توجه بین سلول‌های بلاک نشده وبلاک شده در دوره‌های زمانی مختلف نشان داده شدکه بیان‌کننده جذب اختصاصی است (p<۰/۰۵) (جدول شماره ۱ و نمودار شماره ۱).

نتایج توزیع بیولوژیکی در موش در جدول شماره ۲، نمودارهای شماره ۲ و ۳ خلاصه شده است. نتایج توزیع بیولوژیکی کلیرانس سریع از خون و بیش‌تر بافت‌ها با مسیردفع اصلی کلیه را نشان می‌دهد. بالاترین جذب غیراختصاصی در کلیه‌ها بود که می‌تواند به خاطر هیدروفیلیسیته آن باشد. جذب قابل توجهی از رادیو اکتیویته در بافت‌های دارای گیرندهGRP شامل پانکراس مشاهده شده بود. اختصاصی بودن به وسیله بلاک کردن گیرنده از طریق تزریق هم زمان پپتید سرد با کاهش درصد جذب در پانکراس تایید شده بود. (۰/۸۸ درصد در مقابل ۰/۱۴ درصد، (p<۰/۰۵).

جدول شماره ۱ : میزان جذب (absorption) [HYNIC-(Gly)$_3$-D-Phe^{13}]-BBN (7-14) NH$_2$ نشاندارشده با ^{99m}Tc به سلول در زمان های ۰/۵، ۱، ۲ و۴ ساعت پس از انکوباسیون ۳۷^o

زمان(دقیقه)	بلاک نشده (انحراف معیار±میانگین)*	بلاک (انحراف معیار±میانگین)*
۳۰	۱/۹۵±۱۸/۶۲	۰/۸۹±۶/۲۶
۶۰	۱/۷۶±۲۰/۰۲	۰/۶۵±۶/۱۸
۱۲۰	۳/۰۰±۲۱/۲۰	۰/۷۶±۵/۳۶
۲۴۰	۱/۹۲±۲۳/۵۲	۰/۹۹±۵/۵۶

* تعداد چاهک ها PC-3 (بلاک شده و بلاک نشده) در هر سری آزمایش سه عدد بود.

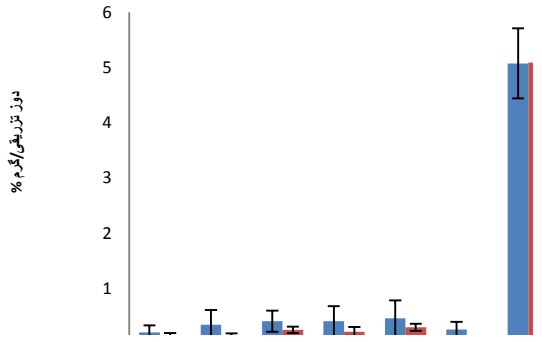


نمودار شماره۱: میزان ورود به سلول [HYNIC-(Gly) $_3$-D-Phe^{13}]-BBN (7-14) NH$_2$ (internalization) نشاندارشده با ^{99m}Tc در زمان های ۰/۵، ۱، ۲ و۴ ساعت پس از انکوباسیون ۳۷^o.نتایج به صورت درصد نمایش داده شده است. تعداد چاهک ها PC-3 (بلاک شده و بلاک نشده) در هر سری آزمایش سه عدد بود.

جدول شماره۲: توزیع زیستی [HYNIC-(Gly)$_3$-D-Phe^{13}]-BBN(7-14) NH$_2$ نشاندارشده با ^{99m}Tc در ۱، ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق. نتایج برای هر ارگان یا بافت شامل درصد دوز تزریقی در هر گرم می باشد.

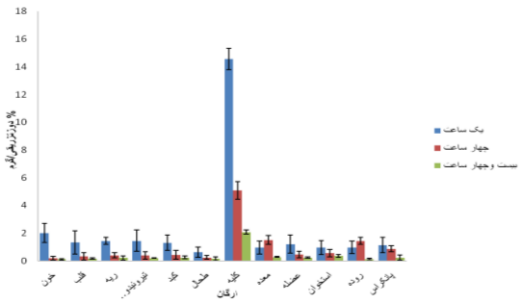
زمان / اندام	یک ساعت انحراف معیار±میانگین	چهار ساعت انحراف معیار±میانگین	چهار ساعت بلاک انحراف معیار±میانگین	بیست و چهار ساعت انحراف معیار±میانگین
خون	۲/۰۱±۰/۶۹	۰/۱۹±۰/۱۳	۰/۱۵±۰/۰۳	۰/۱۲±۰/۰۵
قلب	۱/۳۳±۰/۸۴	۰/۳۳±۰/۲۷	۰/۱۴±۰/۰۴	/۱۸±۰/۰۴
ریه	۱/۴۴±۰/۲۵	۰/۴۰±۰/۱۹	۰/۲۴±۰/۰۶	۰/۲۲±۰/۱۴
تیروئید وغدد بزاقی	۱/۴۵±۰/۷۷	۰/۴۰±۰/۲۷	۰/۲۱±۰/۰۹	۰/۲۰±۰/۰۳
کبد	۱/۳۲±۰/۵۴	۰/۴۵±۰/۳۳	۰/۲۹±۰/۰۷	۰/۲۵±۰/۱
طحال	۰/۶۲±۰/۳۷	۰/۲۵±۰/۱۴	۰/۱۰±۰/۰۱	۰/۱۶±۰/۱۲
کلیه	۱۴/۰۶±۰/۷۷	۵/۰۷±۰/۶۴	۵/۰۹±۰/۳۶	۲/۰۷±۰/۱۵
معده	۰/۹۵±۰/۴۷	۱/۵±۰/۳۲	۰/۸۲±۰/۲۳	۰/۲۸±۰/۰۴
عضله	۱/۲۱±۰/۶۵	۰/۴۶±۰/۲۴	۰/۳۹±۰/۸۶	۰/۲۵±۰/۰۶
استخوان	۰/۹۶±۰/۵۱	۰/۵۵±۰/۲۷	۰/۴۴±۰/۲۴	۰/۳۷±۰/۱
روده	۰/۹۷±۰/۴۴	۱/۴۴±۰/۲۵	۱/۲۶±۰/۵۹	۰/۱۳±۰/۰۶
پانکراس	۱/۱۵±۰/۵۶	۰/۸۸±۰/۲۰	۰/۱۴±۰/۱۹	۰/۲۴±۰/۱۷

تعداد موش نر سالم (بلاک شده و بلاک نشده) بررسی شده در هر زمان۳ عدد بود



نمودار شماره ۲ :توزیع زیستی [HYNIC-(Gly)$_3$-D-Phe^{13}]-BBN(7-14) NH$_2$ نشاندارشده با ^{99m}Tc در ۴ ساعت پس از تزریق. نتایج برای هر ارگان یا بافت شامل درصد دوز تزریقی در هر گرم می باشد تعداد موش نر(بلاک شده و بلاک نشده) بررسی شده در هر زمان۳ عدد بود

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-12]



نمودار شماره ۳: توزیع زیستی [HYNIC-(Gly)$_3$-D-Phe^{13}]-BBN (7-14) NH_2 نشاندار با mTc۹۹ در، ۱ ، ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق. نتایج برای هر ارگان یا بافت شامل درصد دوز تزریقی در هر گرم می باشد تعداد موش نر بررسی شده در هر زمان۳ عدد بود.

بحث

Nock و همکاران مشتق جدیدی از بومبزین تحت عنوان ^{99m}Tc-Demobesin1 را معرفی کردند که تمایل بالا به سلول های PC-3 نشان می‌دهند. جذب در تومور بالای ۱۶ درصد و پانکراس بسیار بالا بود و این بالاترین جذبی بود که تاکنون گزارش شده است اما جذب بسیار بالا در کبد را نیز نشان داد(۱۳).

LaBella و همکاران مشتقی از بومبزین را با ^{99m}Tc نشان دار کرده‌اند که با ارزیابی برون‌تنی و درون‌تنی گزارش کردند که پانکراس به عنوان ارگان طبیعی دارای گیرنده GRP به طور اختصاصی این پپتید نشان دار را جذب می‌کند و هم‌چنین گزارش کردند که رادیوپپتید مورد مطالعه شان تمایل بالا و اختصاصی به سلول‌های PC-3 دارای گیرنده GRP دارد(۱۴). در مطالعات قبلی‌مان گزارش کردیم که استفاده از اسیدآمینه قطبی و فرم D اسیدآمینه به ترتیب باعث تغییر مسیر دفع از کبدی- صفراوی به سیستم کلیوی و افزایش پایداری بومبزین نشان دار می‌شود و میزان ورود به سلول‌های سرطانی PC-3 بالای ۱۰ درصد گزارش شد(۱۶،۱۵). در این مطالعه میزان ورود اختصاصی به سلول سرطانی و پانکراس شبیه مطالعات قبلی مان(۱۶،۱۵) و مطالعه LaBella وهمکاران(۱۴) بود اما از مطالعه Nock و همکاران(۱۳) کم‌تر بود که این می‌تواند مربوط به توالی پپتید باشد. هم‌چنین این مطالعه شبیه به مطالعات قبلی(۱۶-۱۳) اختلاف معنی‌دار قابل توجه‌ای از جذب را بین سلول‌های بلاک شده و بلاک نشده در دوره‌های زمانی مختلف نشان می‌دهد. کونژوگه شدن HYNIC به مشتق بومبزین طراحی شده، خواص فارماکوکینتیک و چربی دوستی از بومبزین را اصلاح کرده و رادیودارو با مسیر دفع کبدی- صفراوی کم‌تر و با دفع عمده کلیوی به دست می‌آید. این یک نتیجه مهم است زیرا بیش‌تر مشتقات بومبزین نشان دارشده تمایل به تجمع در کبد و روده به دلیل چربی دوستی بالا را دارند(۱۹-۱۷). این مشخصات همراه با ویژگی‌ها بر پایه این رادیوپپتید در مطالعه قبلی‌مان(۱۲) امیدبخش بوده وکونژوگه پپتیدی نشان‌دار شده را به‌عنوان یک عامل بالقوه برای تصویربرداری تومورهای دارای گیرنده GRP نشان می‌دهد.

References

1. Schroeder R, Van Weerden W, Bangma C, Krenning E, de Jong M. Peptide receptor imaging of prostate cancer with radiolabelled bombesin analogues. Methods 2009; 48(2): 200-204.
2. Markwalder R, Reubi JC. Gastrin-releasing peptide receptors in the human prostate relation to neoplastic transformation. Cancer Res 1999; 59(5): 1152-1159.
3. Cornelio DB, Meurer L, Roesler R, Schwartsmann G. Gastrin-releasing peptide receptor expression in cervical cancer. Oncology 2007; 73(5-6): 340-345.
4. Okarvi SM. Peptide-based radiopharmaceuticals and cytotoxic conjugates: potential tools against cancer. Cancer Treat Rev 2008; 34(1): 13-26.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-12]

5. Zinn K, Smyth C, Wu Q, Kirkman R, Mountz J, Buchsbaum D, et al. Imaging adenoviral-mediated gene transfer of gastrin releasing peptide receptor (GRPr) using a Tc 99m-labeled bombesin (BBN) analogue. J Nucl Med; 1998: Soc Nuclear Medicine Inc 1850 Samuel Morse Dr, Reston, VA 20190-5316 USA.
6. King R, Surfraz MB-U, Finucane C, Biagini SC, Blower PJ, Mather SJ. 99mTc-HYNIC-gastrin peptides: assisted coordination of 99mTc by amino acid side chains results in improved performance both in vitro and in vivo. J Nucl Med 2009; 50(4): 591-598.
7. Van Den Bossche B, Van de Wiele C. Receptor imaging in oncology by means of nuclear medicine: current status. J Clin Oncol 2004; 22(17): 3593-3607.
8. Fani M, Maecke HR, Okarvi SM. Radiolabeled peptides: valuable tools for the detection and treatment of cancer. Theranostics 2012; 2(5): 481-501.
9. Reubi JC, Mäcke HR, Krenning EP. Candidates for peptide receptor radiotherapy today and in the future. J Nucl Med 2005; 46(1 suppl): 67S-75S.
10. Mariani G, Erba PA, Signore A. Receptor-mediated tumor targeting with radiolabeled peptides: there is more to it than somatostatin analogs. J Nucl Med 2006; 47(12): 1904-1907.
11. Krenning E, Breeman W, Kooij P, Lameris J, Bakker W, Koper J, et al. Localisation of endocrine-related tumours with radioiodinated analogue of somatostatin. Lancet 1989; 333(8632): 242-244.
12. Sadeghzadeh N, Pishsaraee h, Ghasemi y, Emrarian I. Radiochemical Evaluation of New 99 mTc-labelled Bombesin Derivatives with Tripeptidic (Ser-Ser-Ser) and (Gly-Gly-Gly) Spacer for Targeting GRP Receptor Positive-tumors. J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(129): 70-80.
13. Nock B, Nikolopoulou A, Chiotellis E, Loudos G, Maintas D, Reubi J, et al. [99mTc] Demobesin 1, a novel potent bombesin analogue for GRP receptor-targeted tumour imaging. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2003; 30(2): 247-258.
14. LaBella R, Garcia-Garayoa E, Langer M, Bläuenstein P, Beck-Sickinger AG, Schubiger PA. In vitro and in vivo evaluation of a 99m Tc (I)-labeled bombesin analogue for imaging of gastrin releasing peptide receptor-positive tumors. Nucl Med Biol 2002; 29(5): 553-560.
15. Sadeghzadeh N, Gandomkar M, Najafi R, Shafiei M, Ebrahimi SS, Shafiee A, et al. Preparation and evaluation of a new 99mTc labeled bombesin derivative for tumor imaging. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry 2010; 283(1): 181-187.
16. Sadeghzadeh N, Gandomkar M, Shafiee M, Mazidi M, Goudarzi M, Mirfallah SH, et al. Synthesis and evaluation of a new radiolabeled bombesin analogue for diagnosis of GRP receptor expressing tumors. Iran J Nucl Med 2009; 17(1): 18-26.
17. Lane SR, Nanda P, Rold TL, Sieckman GL, Figueroa SD, Hoffman TJ, et al. Optimization, biological evaluation and microPET imaging of copper-64-labeled bombesin agonists,[64 Cu-NO2A-(X)-BBN (7–14) NH 2], in a prostate tumor xenografted mouse model. Nucl Med Biol 2010; 37(7): 751-761.
18. Zhang H, Chen J, Waldherr C, Hinni K, Waser B, Reubi JC, et al. Synthesis and evaluation of bombesin derivatives on the basis of pan-bombesin peptides labeled with indium-111, lutetium-177, and yttrium-90 for targeting bombesin receptor-expressing tumors. Cancer Res 2004; 64(18): 6707-6715.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-12]

19. De Vincentis G, Scopinaro F, Varvarigou A, Ussof W, Schillaci O, Archimandritis S, et al. Phase I trial of technetium [Leu13] bombesin as cancer seeking agent: possible scintigraphic guide for surgery? Tumori 2002; 88(3): S28-S30.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-12]