

## تهیه و ارزیابی عملکرد زیودودین نشاندار با تکنسیم -<sup>۹۹m</sup> به عنوان آنالوگی از تیمیدین در تشخیص سلول‌های سرطانی ریه انسان

سیده مهدیه هاشمی<sup>۱</sup> (Ph.D)، سکینه جوکار<sup>۲</sup> (M.Sc)، فاطمه نقی پور<sup>۲</sup> (M.Sc)، زهره نوع‌پرست<sup>۲\*</sup> (Ph.D)

۱- گروه شیمی دارویی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲- گروه داروسازی هسته‌ای، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۱-۳۳۵۴۲۴۷۲ z\_noparast@yahoo.com و z\_noparast@mazums.ac.ir تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۸/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۶

### چکیده

هدف: ردیاب‌های نوکلوتیدی نشاندار با رادیوهسته‌ها، زمینه‌ای را برای اندازه‌گیری تقسیم سلولی فراهم می‌کنند. زیودودین پیش‌دارویی می‌باشد که توسط آنزیم‌های سلولی در موقعیت ۵' فسفریله شده و به شکل تری‌فسفات فعال در می‌آید. زیودودین تری‌فسفات با آنزیم ترانس کریپتاز معکوس و طویل شدن زنجیره‌ی DNA و ویروس تداخل می‌کند. مواد و روش‌ها: لیگندهای اتیل-۲-پروپینیل استات و ۲-آمینو-N-پروپینیل بنزآمید، به ترتیب از واکنش اتیل-۲-آمینو استات هیدروکلراید با پروپارژیل برومید و ایزاتوییک انیدرید با پروپارژیل آمین تهیه شدند. سپس واکنش کلیک بین گروه استیلن لیگندها و گروه آزید داروی زیودودین انجام و حلقه‌ی ۳،۲،۱-تریازول در محصولات کی‌لیت‌دهنده تشکیل گردید. ساختارهای حاصل تحت واکنش نشاندارسازی با کمپلکس تری‌کربونیل تری‌اکوا تکنسیوم-<sup>۹۹m</sup> قرار گرفتند. کنترل کیفی و سپس پایداری رادیوتریسیس در نرمال سالین با استفاده از HPLC انجام شدند. مطالعات برون‌تنی به منظور ارزیابی میزان تجمع رادیوتریسیس با استفاده از تست بلاکینگ صورت پذیرفت. یافته‌ها: ساختارهای شیمیایی ترکیبات کی‌لیت‌دهنده با طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی پروتون و کربن و آنالیز عنصری تایید گردیدند. پس از بهینه کردن شرایط نشاندارسازی، آنالوگ‌های تیمیدینی با کمپلکس تری‌کربونیل تری‌اکوا تکنسیوم -<sup>۹۹m</sup> با راندمان مطلوبی نشاندار شدند. ترکیبات نشاندار شده، دارای پایداری مناسبی در نرمال سالین بودند و همچنین ورود به سلول‌های سرطانی ریه را از خود نشان دادند. نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه، قابلیت استفاده از آزیدوتیمیدین‌های نشاندار شده با کمپلکس تری‌کربونیل تری‌اکوا تکنسیوم را به عنوان ابزاری جهت تصویربرداری مولکولی سرطان نشان داد.

واژه‌های کلیدی: زیودودین، تیمیدین، کمپلکس تری‌کربونیل، تکنسیوم، سرطان ریه، سنتز

### مقدمه

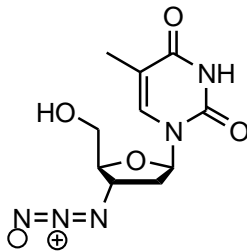
است و بالاترین میزان سرطان ریه در اروپای مرکزی و شرقی و آسیای شرقی است. در زنان، سرطان ریه سومین سرطان شایع است و بیش‌ترین میزان آن در آمریکای شمالی، شمال اروپا و آسیای شرقی است. تلاش برای تشخیص و درمان این بیماری‌ها در مراحل اولیه آن، به منظور دستیابی به نتایج بهتر درمانی از اهداف اصلی در دنیای امروز محسوب می‌شود [۱]. تصویربرداری مولکولی یک شاخه تشخیصی در حال پیشرفت است که هدف آن تشخیص فرایندهای طبیعی و پاتولوژیکی در سطح سلولی و مولکولی در موجود زنده است و توانایی مشاهده غیرتهاجمی تغییرات متابولیکی و بیوشیمیایی در داخل بدن و در نتیجه تشخیص بیماری را قبل از وقوع تغییرات فیزیولوژیکی یا آناتومیکی عمده امکان‌پذیر می‌سازد [۲]. از میان

سرطان از جمله بیماری‌هایی است که می‌تواند در هر قسمتی از بدن تاثیرگذار بوده و به عنوان یکی از علل عمده مرگ در سراسر جهان محسوب می‌شود که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به سرطان‌های ریه، معده، کبد، کلورکتال، پستان و سرطان گردن رحم اشاره کرد. سرطان ریه سومین سرطان شایع در جهان می‌باشد و همچنین شایع‌ترین علت مرگ و میر ناشی از سرطان است و تخمین زده می‌شود که تقریباً یک مورد از هر پنج مرگ ناشی از سرطان باشد. مرگ‌های ناشی از سرطان ریه از ۱/۲ میلیون به ۱/۸ میلیون افزایش یافته است و در حال حاضر ششمین علت مرگ و میر را به خود اختصاص داده است. در مردان، سرطان ریه شایع‌ترین سرطان تشخیص داده شده

می‌کند. فعالیت آنزیم تلومراز در ۸۵٪ سرطان‌های انسانی افزایش یافته که منجر به افزایش پایداری کروموزومی و بقای انواع بدخیمی‌ها می‌شود.

زیودودین (شکل ۱) یک آنالوگ تیمیدینی است، که گروه ۳-هیدروکسیل در آن با یک گروه آزید جایگزین می‌شود [۱۱]. تحقیقات نشان داده که حضور گروه آزید در موقعیت ۳ تیمیدین نه تنها تاثیری در فعالیت آنزیم تیمیدین فسفاتاز نداشته بلکه به عنوان یک استخلاف مناسب جهت اتصال با کمپلکس‌های تکنسیوم می‌باشد. در حالی که تمایل آن‌ها به آنزیم تیمیدین کیناز حفظ می‌شود [۸، ۱۲].

شکل ۱. ساختار زیودودین یا آزیدوتیمیدین



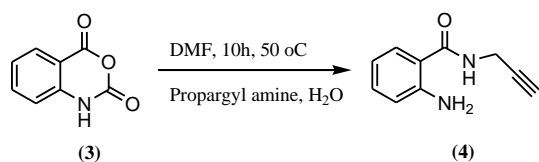
از این رو در این مطالعه از داروی ضد ویروس زیودودین، که دارای ساختار نوکلئوتیدی می‌باشد، برای تهیه یک رادیو ترایس مناسب جهت تشخیص سلول‌های سرطانی استفاده گردیده است. ابتدا شلاتورهای اتیل-۲- (پروپینیل آمینو) استات و ۲-آمینو-N- پروپینیل بنزآمید سنتز گردیده و سپس به گروه آزید در ساختار زیودودین از طریق واکنش کلیک متصل شدند. ساختارهای حاصل تحت واکنش نشاندارسازی با کمپلکس تری‌کربونیل تری‌آکوا تکنسیوم قرار گرفتند. سایر مراحل شامل کنترل کیفی، بررسی پایداری کمپلکس، میزان هدفمند بودن اتصال به سلول‌های سرطانی ریه انسانی مورد بررسی قرار گرفتند.

### مواد و روش‌ها

رده سلولی A-549 (سلول سرطانی ریه انسانی: Adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells) از بانک ژن انستیتو پاستور (تهران، ایران) تهیه شد و در محیط کشت (Dulbecco's Modified Eagle's DMEM (Fetal Bovine Serum) حاوی سرم جنین گاوی (گیبو، انگلستان) به میزان ۱۰٪ و مخلوط پنی‌سیلین-استریتومایسین (گیبو، انگلستان) ۱۰۰ μg/mL در دردمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و دی‌اکسید کربن ۵٪ کشت شدند. جهت انتقال سلولی به فلاسک‌های سلولی مختلف از محلول ترپیسین-EDTA (Biowest، فرانسه) استفاده گردید. لوازم شیشه‌ای مورد استفاده برای انجام عملیات سلولی با استفاده از آون (۲ ساعت،

رادیوداروهای موجود مورد استفاده در این روش، بیش از ۸۰٪ با تکنسیوم-۹۹m به منظور اهداف تشخیصی نشاندار می‌شوند. علت استفاده‌ی بالا از تکنسیوم ناشی از انرژی مناسب پرتو گاما آن (۱۴۰ Kev) جهت استفاده در روش تصویربرداری SPECT، دسترسی مناسب به صورت ژنراتور  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ ، قیمت ارزان، سادگی نشاندارسازی کیت‌ها و نیمه عمر مناسب آن (۶ ساعت) می‌باشد که موجب کاهش دز دریافتی بیمار و سادگی در دفع پسماندهای آن می‌شود [۳]. پایداریترین فرم اکسایشی تکنسیوم +۷ می‌باشد که به فرم شیمیایی آنیون پرتکتات است و در واقع به صورت مستقیم به هیچ لیگاندی متصل نمی‌شود. بنابراین کاهش عدد اکسایش تکنسیوم در حضور یک لیگاند مناسب پیش شرط سنتز مولکول‌های نشاندار شده با  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  است [۴]. نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدها نقش محوری را در بیوشیمی سلولی ایفا می‌کنند. آنالوگ‌های شیمیایی اصلاح شده نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدها ابزار مهمی را در درک درستی از فرایندهای سلولی فراهم می‌کند و آنالوگ‌های نشاندار شده آن‌ها توانایی پیگیری سرطان‌ها و سایر بیماری‌ها را از طریق تصویربرداری مولکولی دارند. از میان این مولکول‌ها می‌توان به داروهای ضد ویروس مانند پنسیکلوویر و زیودودین (آزیدو داکسی تیمیدین یا AZT) اشاره نمود [۵-۷].

زیودودین رپلیکیت شدن HIV-1 را با مهار رقابتی ترانس کریپتاز معکوس مهار می‌کند. این دارو در داخل سلول توسط آنزیم تیمیدین کیناز فسفریله و به فرم فعال AZT - تری فسفات تبدیل می‌شود که به‌طور انتخابی طویل شدن زنجیره DNA را توسط ترانس کریپتاز معکوس مهار می‌نماید [۸]. آنزیم تیمیدین کیناز انسانی (hTK1) یک آنزیم سیتوزولی است که انتقال گروه فسفات را از ATP به گروه ۵'- هیدروکسی تیمیدین و ۲'- داکسی‌یوریدین را کاتالیز می‌کند. فسفریله کردن آنالوگ تیمیدینی AZT مرحله اول فعالیت ضد ایدزی آن محسوب می‌شود. فعالیت آنزیم hTK1 در هنگام سنتز DNA افزایش یافته و بسیاری از آنالوگ‌های تیمیدین برای ارزیابی فعالیت بالای این آنزیم در سلول‌هایی که به سرعت تکثیر می‌شوند به‌کار گرفته می‌شوند. به‌طور مشابه این آنالوگ‌های تیمیدینی می‌توانند با رادیونوکلئیدهای مناسب نشاندار و برای ارزیابی رشد تومورها و پاسخ به درمان به‌کار روند. این دارو به همراه اینترفرون آلفا قادر به آپویتوز در herpesvirus-associated lymphomas بوده و یا به همراه داروهای آنتی‌متابولیت رشد سلول‌های سرطانی را در مثانه، کولون و پستان مهار می‌کند [۹، ۱۰]. به‌وسیله‌ی ایجاد اختلال در عوامل سنتز DNA فعالیت ضد سرطانی دارد. مطالعات نشان داده است که AZT به‌صورت *in vivo* فعالیت آنزیم‌های داخل سلولی مانند تلومراز را مهار



شکل ۲. سنتز شلاتورهای A: اتیل-۲-(پروپینیل آمینو) استات و B: ۲-آمینو-N-پروپینیل بنزآمید

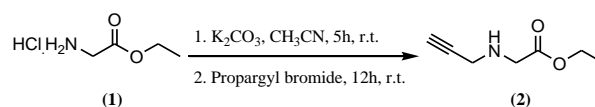
سنتز اتیل-۲-(۵-متیل-۴،۲-دی اکسو پیریمیدینیل-۲-هیدروکسی متیل فوران)-۳،۲،۱-تریازولیل متیل آمینو استات (۶). واکنش کلیک یا همان واکنش حلقه‌زایی [۲+۳] بین گروه استیلین از ترکیب ۲ (۰/۴۸ میلی‌مول، ۶۱ میلی‌گرم) و گروه آزید از داروی ضد ویروس زیدوودین (۵) (۰/۳۲ میلی‌مول، ۱۰۰ میلی‌گرم) در حضور سولفات مس (II) (۰/۰۲ میلی‌مول، ۵ میلی‌گرم) و سدیم آسکوربات (۰/۲ میلی‌مول، ۴۰ میلی‌گرم) در مخلوطی از حلال‌های ترشیو بوتیل الکل و آب (۱:۱) انجام شد. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در دمای اتاق استیرر شد. سپس حلال واکنش به دستگاه روتاری خارج و رسوب حاصل در حلال متانول حل شده و محصول ۶ با استفاده از ستون کروماتوگرافی در مخلوطی از حلال‌های کلروفرم-متانول با نسبت ۱:۱۰ جداسازی شد (شکل ۳) [۱۴]. در مرحله خالص‌سازی، ابتدا از حلال کلروفرم در فاز متحرک ستون کروماتوگرافی شروع کردیم و در ادامه برای خروج ناخالصی‌ها از نسبت مساوی کلروفرم و متانول استفاده کردیم. با خارج شدن تدریجی ناخالصی‌ها، حجم متانول را تا نسبت ۱۰ به ۱ کلروفرم افزایش دادیم تا جایی که برای به‌دست آوردن ماده نهایی خالص از نسبت ۱:۱۰ استفاده نمودیم. راندمان سنتز این ترکیب ۵۳٪ می‌باشد.

سنتز ۲-آمینو-N-(۵-متیل-۴،۲-دی اکسو پیریمیدینیل-۲-هیدروکسی متیل فوران)-۳،۲،۱-تریازولیل متیل بنزآمید (۷). واکنش حلقه‌زایی [۲+۳] بین گروه استیلین از شلاتور ۲-آمینو-N-پروپینیل بنزآمید (۴) (۰/۹۶ میلی‌مول، ۱۶۷/۲۳ میلی‌گرم) و گروه آزید از ترکیب ۵ (۰/۳۲ میلی‌مول، ۱۰۰ میلی‌گرم) در حضور سولفات مس (II) (۰/۰۲ میلی‌مول، ۵ میلی‌گرم) و سدیم آسکوربات (۰/۲ میلی‌مول، ۴۰ میلی‌گرم) در مخلوطی از حلال‌های ترشیو بوتیل الکل و آب (۱:۱) انجام شد. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در دمای اتاق هم‌زده شد و سپس حلال واکنش با دستگاه روتاری خارج و رسوب سفید رنگ حاصل در حلال متانول حل شده و محصول ۷ با استفاده از ستون کروماتوگرافی در مخلوطی از حلال‌های هگزان اتیل استات با نسبت ۱:۱ جداسازی شد که جزئیات روند خالص‌سازی این ترکیب، مانند روش به کار رفته در مورد

(۲۰۰ °C) و دیگر لوازم با استفاده از اتوکلاو (۱۷ دقیقه، ۱۲۱ °C، ۲bar) استریل شدند. زیدوودین از شرکت سیگما-آلدريج خریداری و در دمای ۲۰ °C - نگهداری شد.

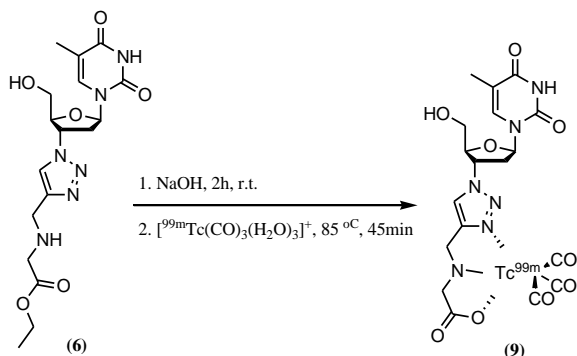
لازم به ذکر است تمامی مراحل تحقیقاتی که مربوط نشاندارسازی با رادیونوکئید تکنسیوم -۹۹m با رعایت کامل نکات حفاظت بهداشت پرتو و تا حد امکان در زیر هود مخصوص انجام شد. پس از اتمام فعالیت در هر بخش از مطالعه، پسماندها به اتاق مخصوص پسماند منتقل شده و پس از کاهش تابش‌دهی به حد زمینه، همانند دیگر زباله‌ها با آن رفتار گردید. سنتز لیگاندهای اتیل-۲-(پروپینیل آمینو) استات (۲) و ۲-آمینو-N-پروپینیل بنزآمید (۴). به منظور سنتز لیگاند اتیل-۲-(پروپینیل آمینو) استات (۲) از مواد اولیه اتیل-۲-آمینو استات هیدروکلراید (۱) و پروپارژیل برمید استفاده شد. با توجه به این‌که آمین نوع اول پروتونه شده تمایلی به انجام واکنش آلکیلاسیون از خود نشان نمی‌دهد در نتیجه در مرحله اول، پروتونه شدن آمین (۰/۵ گرم، ۳/۵۸ میلی‌مول) در حضور باز کربنات پتاسیم (۲ گرم، ۶/۵۲ میلی‌مول) در حلال استونیتریل (۴ میلی‌لیتر) به مدت ۵ ساعت در دمای اتاق انجام شد. سپس واکنش آلکیلاسیون با افزودن آهسته ترکیب پروپارژیل برمید با نسبت مولی ۱:۱ (۰/۵۳۸ گرم، ۰/۳۸۹ میلی‌لیتر) در حلال استونیتریل به مخلوط واکنش، در دمای اتاق انجام شد. بعد از گذشت ۱۲ ساعت، مخلوط واکنش برای جداسازی رسوب سفید رنگ صاف شد. سپس محلول زیر صافی با استفاده از دستگاه روتاری تبخیر و محصول نهایی (۲) به وسیله ستون کروماتوگرافی جداسازی گردید. در فرآیند جداسازی، ابتدا از مخلوط یک حجم هگزان و ۱/۲ حجم اتیل استات در فاز متحرک ستون کروماتوگرافی شروع کردیم و با خارج شدن تدریجی ناخالصی‌ها، حجم اتیل استات را افزایش دادیم تا جایی که برای به‌دست آوردن ماده نهایی خالص از نسبت مساوی هگزان- اتیل استات (۱:۱) استفاده نمودیم. راندمان سنتز این ترکیب ۶۴٪ می‌باشد. برای تهیه لیگاند ۲-آمینو-N-پروپینیل بنزآمید (۴)، ابتدا واکنش بین ایزاتوییک انیدرید (۳) و پروپارژیل آمین در DMF و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ساعت انجام پذیرفت و محصول واکنش، (۴)، بدون خالص‌سازی بیش‌تر برای مرحله حلقه‌زایی در واکنش کلیک مورد استفاده قرار گرفت [۱۳] (شکل ۲).

A)



B)

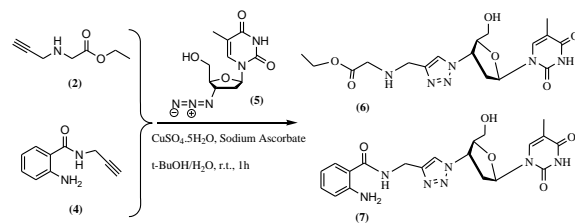
نشاندارسازی مشتق تیمیدینی ۶ با هسته تکنسیوم تری کربونیل تری آکوا تکنسیوم  $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  و کنترل کیفی آن. به منظور نشاندارسازی مشتق تیمیدینی ۶، ابتدا برای هیدرولیز نمودن گروه استری، ۵۰ - ۱۰۰ میکرولیتر محلول یک مولار از سدیم هیدروکسید به محلول لیگاند افزوده و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق هم زده شد. سپس ۳۷-۴۰ مگابکرل از کمپلکس  $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  (۸) به ۵۰ میکرولیتر (۰/۰۰۱ مولار) از محلول لیگاند افزوده و سپس ۲۵۰ میکرولیتر فسفات بافر سالین (PBS, pH=۷/۴) به آن اضافه و PH نهایی در محدوده ۸-۷/۵ تنظیم شد. مخلوط واکنش به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد حرارت داده شد (شکل ۵). بعد از خنک شدن در دمای اتاق کنترل کیفی ترکیب نشاندار ۹ توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مجهز به آشکارساز گاما و ستون C18 و با استفاده از دو فاز متحرک ۰/۱٪ TFA در آب دیونیزه (حلال A) و ۰/۱٪ TFA در استونیتریل (حلال B) انجام شد. گرادینت فاز متحرک مشابه با کنترل کیفی کمپلکس  $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  انتخاب گردید.



شکل ۵. نشاندار سازی مشتق تیمیدینی ۶

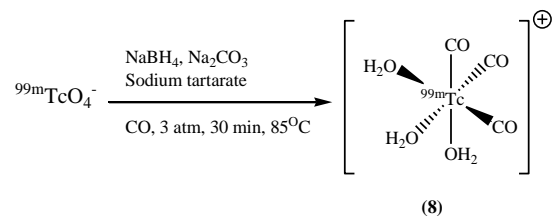
نشاندارسازی مشتق تیمیدینی ۷ با هسته تکنسیوم تری کربونیل تری آکوا تکنسیوم  $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  و کنترل کیفی آن. برای نشاندارسازی ترکیب ۷، ابتدا ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین با pH=۸-۷/۵ به ۵۰ میکرولیتر از ترکیب ۷ اضافه شد، سپس کمپلکس تری کربونیل تری آکوا تکنسیوم ۸ به میزان ۴۰ مگابکرل به مخلوط اضافه می شود. به وسیله کاغذ تورنسل، PH در محدوده ۸-۷/۵ تنظیم شد و مخلوط را زیر هود به مدت ۴۰ دقیقه در هیتر در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد برای تشکیل کمپلکس قرار می دهیم (شکل ۶). پس از این که در دمای اتاق خنک شد کنترل کیفی آن به وسیله دستگاه HPLC مجهز به آشکارساز گاما و ستون C18 و با دو فاز متحرک ۰/۱٪ TFA در استونیتریل (حلال A) و ۰/۱٪ TFA در آب (حلال B) انجام شد. گرادینت فاز متحرک مشابه کنترل کیفی  $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  انتخاب شد.

ترکیب ۲ بوده است (شکل ۳) [۱۴]. راندمان سنتز این ترکیب ۴۸٪ می باشد.



شکل ۳. سنتز مشتقات تیمیدینی ۶ و ۷ با استفاده از واکنش کلیک

سنتز کمپلکس تری کربونیل تری آکوا تکنسیوم سنتز کمپلکس تری کربونیل تری آکوا تکنسیوم (۸)، ۶ میلی گرم از سدیم بورهیدرات ( $\text{NaBH}_4$ )، ۱۲ میلی گرم سدیم تارتارات و ۶ میلی گرم سدیم کربنات ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) را در ۲ میلی لیتر آب مقطر حل شده و به درون یک ویال ۱۰ میلی لیتری انتقال یافت و گاز مونوکسید کربن به مدت ۵ دقیقه به درون ویال دمیده شد. سپس ۱۰ میلی کوری  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  تازه دوشیده شده به ویال افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه تحت مونواکسید کربن با فشار ۳ اتمسفر در حرارت ۸۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه ویال از حرارت خارج کرده و پس از خنک شدن pH محلول با استفاده از HCl یک مولار در محدوده ۸-۷ تنظیم گردید (شکل ۴). بررسی خلوص رادیوشیمیایی کمپلکس تری کربونیل تری آکوا تکنسیوم ۸ توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مجهز به آشکارساز گاما و ستون C18 و با استفاده از دو فاز متحرک ۰/۱٪ TFA در آب دیونیزه (حلال A) و ۰/۱٪ TFA در استونیتریل (حلال B) انجام شد [۱۵]. گرادینت فاز متحرک با گذر زمان به صورت زیر بوده است: در زمان صفر حلال A از ۱۰۰٪ آغاز و با گذر زمان تا ۳۰ دقیقه به ۰٪ کاهش یافت. این در حالی است که حلال B با گذر زمان تا ۳۰ دقیقه به از صفر به ۱۰۰٪ افزایش می یابد. در زمان ۳۰ تا ۴۰ دقیقه درصد حلال B ثابت ماند.



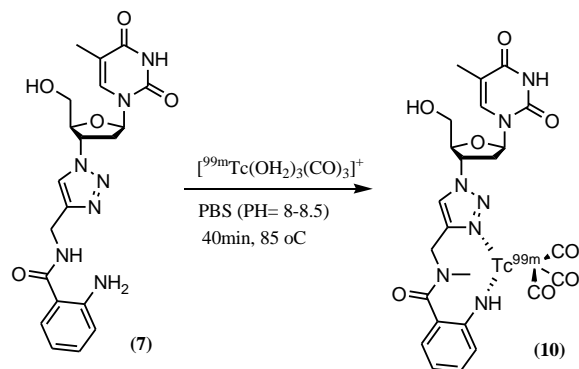
شکل ۴. تهیه کمپلکس تکنسیوم تری کربونیل تری آکوا تکنسیوم

تکرار و در نهایت میزان عددی logP از فرمول زیر به دست می‌آید.

$$\text{Log P} = \log [\text{counts (n-octanol)} / \text{counts (PBS)}]$$

ارزیابی میزان جذب مشتقات تیمیدینی نشاندار شده ۹ و ۱۰ در رده سلولی سرطان ریه (A549). بررسی میزان جذب مشتقات تیمیدینی نشاندار ۹ و ۱۰ با روش اشباع سازی (Blocking) انجام پذیرفت. برای تعیین میزان ورود به سلول ترکیب نشاندار، رده سلولی A549 به میزان  $5.0 \times 10^2$  در پلیت‌های ۱۲ تا ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش به منظور تثبیت سلولی کاشته شدند. سلول‌ها در انکوباتور  $\text{CO}_2$  در دمای ۳۷ درجه در محیط کشت DMEM با ۱۰٪ (V/V) FBS و پنی‌سیلین-استرپتومایسین ۱٪ آنکوبه شدند. در روز آزمایش محیط کشت رویی هر چاهک تخلیه دو میلی‌لیتر محیط کشت ناقص (فاقد FBS) شست‌وشو داده شد. در تست بلاک (۶ بشقابک بلوک)، سلول‌های A549 توسط ۲۵۰ میکرولیتر زیدوودین در محیط کشت در غلظت ۵۰۰ برابر بیش‌تر از غلظت ترکیب نشاندار اشباع شدند (غلظت لازم از زیدوودین نشاندار نشده ۰/۱۱۲۲ مولار تهیه شد). سپس برای دستیابی به شرایط محیطی مشابه با سایر بشقابک‌ها ۲۵۰ میکرولیتر محیط کشت کامل اضافه شد. بعد از آنکوباسیون به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در ۵٪  $\text{CO}_2$ ، ترکیبات نشاندار (۲۵۰ میکرولیتر) به هر چاهک اضافه شد و بار دیگر به مدت دو ساعت آنکوبه شد. پس از تخلیه محیط کشت رویی چاهک‌ها، سطح سلول‌ها با یک میلی‌لیتر محیط کشت ناقص (فاقد FBS) شست‌وشو داده شد، سپس محیط کشت تخلیه شده به همراه محیط کشت حاصل از شست‌وشو سطح سلول‌ها به لوله‌های گاما کانتیر مخصوص محیط کشت منتقل شدند. با اضافه کردن محلول یک مولار سدیم هیدروکسید سلول‌ها از کف پلیت جدا شده و سپس به لوله‌های گاما کانتیر مخصوص سلول‌ها منتقل شدند سپس میزان رادیواکتیویته سلول‌های بلاک شده و بلاک نشده با استفاده از دستگاه گاما کانتیر تعیین شد. مقایسه عملکرد مشتقات تیمیدینی نشاندار نسبت به شرایط سلولی متفاوت با استفاده از آزمون تی تست دو دنباله در نرم‌افزار اکسل انجام و تفاوت عملکردهایی با مقدار  $P < 0.05$  به عنوان تفاوت معنی‌دار در رفتار تلقی شد.

تجزیه و تحلیل آماری. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار (SD) نمایش داده شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون t مستقل برای تعیین تفاوت بین گروه‌های کنترل و تیمار انجام شد. تفاوت‌هایی از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد که مقادیر  $P < 0.05$  کم‌تر باشد.



شکل ۶. نشاندارسازی مشتق تیمیدینی ۷

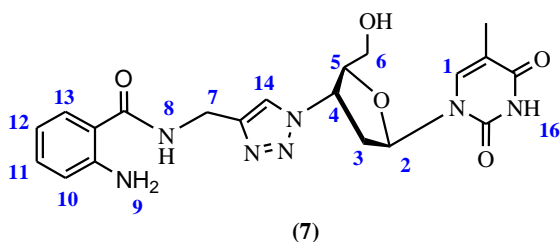
بررسی پایداری مشتقات تیمیدینی نشاندار ۹ و ۱۰ در نرمال سالین. به منظور برآورد میزان پایداری مشتقات تیمیدینی ۹ و ۱۰، ابتدا نشاندارسازی در حضور بافر فسفات سالین در شرایط بهینه نشاندارسازی انجام شد. پس از اتمام واکنش، پایداری ترکیبات نشاندار در نرمال سالین در دمای اتاق مورد بررسی قرار گرفت. بررسی پایداری با آنکوبه کردن ترکیبات نشاندار در نرمال سالین به نسبت یک به سه (V/V) توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) در زمان‌های ۰، ۲، ۴ و ۶ ساعت انجام شد. آنالیز HPLC ترکیبات نشاندار به وسیله آشکارساز گاما و ستون C18 انجام شد که شامل دو فاز متحرک می‌باشد (الف) ۰/۱٪ TFA در استونیتریل و (ب) ۰/۱٪ TFA در آب. شست‌وشوی ستون HPLC به وسیله محلول‌های ۰/۱٪ TFA در استونیتریل و ۰/۱٪ TFA در آب صورت گرفت، به طوری که گرادیان غلظت محلول‌ها با گذر زمان تغییر می‌کند، در زمان صفر محلول ۰/۱٪ TFA در استونیتریل از ۱۰٪ شروع و با گذر زمان به ۳۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ افزایش می‌یابد. به این ترتیب با غیرقطبی شدن محلول شست‌وشو، نمونه‌ای که در ابتدا خارج می‌شود خاصیت قطبی دارد و بخش غیرقطبی نمونه که تمایل بیشتری به ستون دارد دیرتر از آن خارج می‌شود.

بررسی ضریب توزیع مشتقات تیمیدینی نشاندار شده ۹ و ۱۰. به منظور اندازه‌گیری ضریب توزیع مشتقات تیمیدینی نشاندار شده ۹ و ۱۰ از فسفات بافر سالین (۰/۲۵ M, pH=۷/۵) و n-اکتانول استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام از ترکیبات نشاندار به سیستم دو فازی شامل یک میلی‌لیتر n-اکتانول و ۰/۹ میلی‌لیتر از PBS اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق وورتکس و سپس به مدت ۵ دقیقه در دور ۴۰۰۰ به منظور اطمینان کامل از جداسازی دو فاز سانتریفیوز گردید. بعد از جداسازی، یک میلی‌لیتر از هر دو فاز n-اکتانول و فسفات بافر سالین را در تیوب‌های جداگانه ریخته و هر یک به وسیله دستگاه گاما کانتیر شمارش گردید. این تست برای سه بار



$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.82 (s, 1H, H-1), 7.54 (s, 1H, H-12), 6.27 (t, 1H,  $J=6.4$  Hz, H-2), 5.44-5.48 (m, 1H, H-4), 4.71 (brs, 2H, H-7), 4.40 (t, 1H,  $J=2.8$  Hz, H-6), 4.19 (q, 2H,  $J=6.8$  Hz, H-10), 4.00 (s, 1H, NH), 3.96 (brs, 2H, H-9), 3.79 (d, 1H,  $J=10.2$  Hz, H-3), 3.50 (m, 3H), 2.90-2.96 (m, 2H, H-5), 1.90 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.28 (t, 3H,  $J=7.2$  Hz, H-11);  $^{13}\text{CNMR}$ (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  172.086, 164.074, 150.649, 137.611, 122.214, 111.196, 87.992, 85.235, 61.349, 61.036, 59.203, 44.056, 37.579, 14.204, 12.436. Anal. Calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_6$ : C, 49.99; H, 5.92; N, 20.58. Found: C, 50.02; H, 5.91; N, 20.60.

2-Amino-N-((1-((2S,3S,5R)-tetrahydro-5-(3,4-dihydro-5-methyl-2,4-dioxypyrimidin-1(2H)-yl)-2-(hydroxymethyl)furan-3-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)benzamide (7)

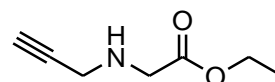


$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  11.38 (s, 1H, H-16), 8.77 (s, 1H, H-8), 8.17 (s, 1H, H-14), 7.83 (s, 1H, H-1), 7.54 (dd, 1H,  $J=8.0$  and 2.4 Hz, H-13), 7.40 (t, 1H, H-11), 7.26-7.29 (m, 1H, H-10), 7.15 (t, 1H,  $J=8.4$  Hz, H-12), 6.70 (d, 1H,  $J=8.0$  Hz, H-2), 6.49 (d, 2H,  $J=12.0$  Hz, H-7), 6.43 (t, 1H,  $J=6.8$  Hz, H-4), 5.28-5.39 (m, 2H, H-6), 4.49 (d, 2H,  $J=5.6$  Hz, H-9), 4.21 (d, 1H,  $J=5.2$  Hz, H-5), 2.58-2.80 (m, 3H, H-3 & H-15), 1.82 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 169, 166, 152, 150, 146, 136, 132, 128, 123, 116, 114.9, 114.5, 110, 84.8, 84.4, 61, 59, 37, 34. Anal. Calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_7\text{O}_5$ : C, 54.42; H, 5.25; N, 22.21. Found: C, 54.43; H, 5.23; N, 22.20.

سنتز و کنترل کیفی کمپلکس تری کربونیل تری آکو

تکنسیوم (A)  $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$

سنتز ترکیب اتیل-۲-(پروپینیل آمینو) استات (۲)  
سنتز ترکیب اتیل-۲-(پروپینیل آمینو) استات ۲، از مواد اولیه اتیل-۲-آمینو استات هیدروکلرید ۱ و پروپارژیل برمید، در حضور باز کربنات پتاسیم و حلال استونیتریل و در دمای اتاق انجام شد. بعد از گذشت ۱۲ ساعت محصول نهایی با راندمان ۶۰٪ جداسازی گردید و شناسایی ساختار آن با استفاده از تکنیک‌های دستگاهی  $^1\text{H-NMR}$  و  $^{13}\text{C-NMR}$  و آنالیز عنصری تایید شد. نتایج آنالیز به صورت زیر می‌باشد:  
Ethyl 2-(prop-2-ynylamino)acetate (2)

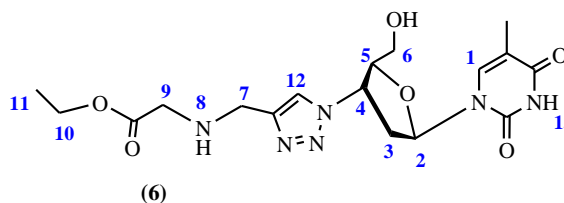


$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.28 (s, 1H, CH), 4.21 (q, 2H,  $J=7.2$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.51 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.50 (d, 2H,  $J=2.4$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.25 (t, 1H,  $J=2.4$  Hz, NH), 1.29 (t, 3H,  $J=7.2$  Hz,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{CNMR}$ (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  171.92, 81.130, 72.011, 60.913, 49.221, 37.651, 14.203; Anal. Calcd for  $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_2$ : C, 59.56; H, 7.85; N, 9.92. Found: C, 59.52; H, 7.83; N, 9.90.

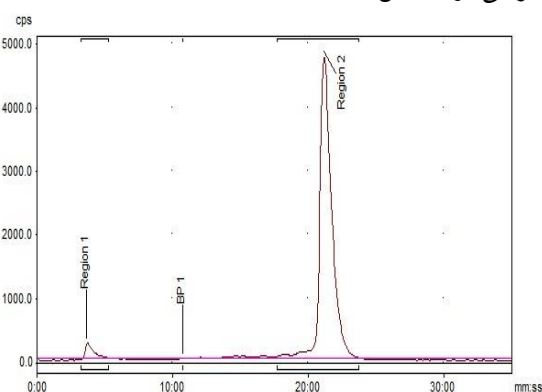
سنتز اتیل-۲-(۵-متیل-۴،۲-دی اکسو پیریمیدینیل-۲-هیدروکسی متیل فوران)-۳،۲،۱-تریازولیل متیل آمینو استات (۶) و سنتز ۲-آمینو-۲-(۵-متیل-۴،۲-دی اکسو پیریمیدینیل-۲-هیدروکسی متیل فوران)-۳،۲،۱-تریازولیل متیل بنزامید (۷)

در واکنش حلقه‌زایی [۲+۳] بین گروه استیلن از ترکیب ۲ یا ۴ و گروه آزید از داروی زیذودین (۵) در حضور سولفات مس (II) و سدیم آسکوربات و هم‌چنین مخلوطی از حلال‌های ترشری بوتیل الکل و آب (۱:۱) حلقه‌ی ۳،۲،۱-تریازول تشکیل شد. محصولات واکنش ۶ و ۷ به ترتیب با راندمان ۷۶ و ۸۴٪ با استفاده از ستون کروماتوگرافی جداسازی گردید و ساختار آن‌ها با استفاده از تکنیک‌های دستگاهی تایید شدند. نتایج آنالیز در زیر آمده است:

Ethyl 2-((1-((2S,3S,5R)-tetrahydro-5-(3,4-dihydro-5-methyl-2,4-dioxypyrimidin-1(2H)-yl)-2-(hydroxymethyl)furan-3-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methylamino)acetate (6)



بافر واکنش، بازده مناسبی به دست نیامد. این در حالی بود که در حضور فسفات بافر سالین (pH=7-8) بازده واکنش به طور میانگین  $90/3 \pm 4\%$  ( $n=5$ ) افزایش پیدا کرد ماکزیمم درصد نشاننداری در حضور فسفات بافر سالین (pH=7-8) 96% بود. همچنین وابستگی به متغیر اسیدیته با مقایسه بازده نشاننداری در دو بافر فسفات بافر سالین که دارای غلظت‌های مشابه بودند و pHهای متفاوت 6/5 و 8/5 داشتند انجام پذیرفت. بررسی خلوص رادیوشیمیایی محصول نشاننداری مشخص نمود که با اسیدی قلبی شدن محیط واکنش، بازده واکنش نشاننداری به کم‌تر از 50% کاهش یافت. در تعیین خلوص رادیوشیمیایی محصول 9، از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مجهز به آشکارساز گاما و ستون C18 و دو فاز متحرک 0/1% TFA در آب دیونیزه (حلال A) و 0/1% TFA در استونیتریل (حلال B) و گرادیانت ذکر شده استفاده گردید. در این گرادیانت زمان بازداری کمپلکس تری‌کربونیل، پرتکتات آزاد و مشتق تیمیدینی نشاندار 9 به ترتیب در حدود 5 (Region1)، 8 و 22 (Region2) دقیقه ظاهر می‌شود (شکل 8).

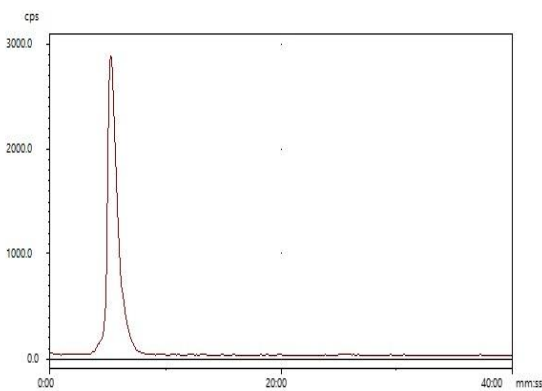


شکل 8. تعیین بازده واکنش نشاننداری مشتق تیمیدینی 9. فاز متحرک: 0/1% TFA در آب دیونیزه (حلال A) و 0/1% TFA در استونیتریل: تری‌کربونیل آزاد و مشتق تیمیدینی نشاندار به ترتیب در حدود 5 (Region 1) و 22 دقیقه (Region 2)

نشاننداری مشتق تیمیدینی 7 با هسته تکنسیوم تری‌کربونیل تری‌آکوا تکنسیوم  $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  و کنترل کیفی آن

جهت نشاننداری مشتق تیمیدینی 7، 250 میکرولیتر بافر فسفات سالین 8-8/5 pH به 50 میکرولیتر از محلول لیگاند اضافه شد، سپس کمپلکس  $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  (8) به میزان 40 مگابکرل به مخلوط واکنش نشاننداری اضافه شد و به مدت 40 دقیقه در دمای 85 درجه سانتی‌گراد برای تشکیل کمپلکس 10 قرار داده شد. عوامل اسیدیته و بافر روی بازده نشاننداری تاثیر زیادی داشت به طوری که وقتی از بافر

ستتر کمپلکس تری‌کربونیل تری‌آکوا تکنسیوم 8 با استفاده از سدیم بورهیدرات، سدیم تارتارات و سدیم بی‌کربنات در آب مقطر، با افزودن سدیم پرتکتات ( $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ) تحت گاز مونواکسید کربن با فشار 3 اتمسفر در حرارت 85 درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از گذشت 30 دقیقه و یال از حرارت خارج کرده و پس از خنک شدن pH محلول با استفاده از HCl یک مولار در محدوده 7-8 تنظیم گردید. بررسی خلوص رادیوشیمیایی کمپلکس تری‌کربونیل تری‌آکوا تکنسیوم توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مجهز به آشکارساز گاما و ستون C18 با استفاده از گرادیانت ذکر شده انجام گردید. رادیوکروماتوگرام مربوط به کمپلکس  $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  در شکل 7 نمایش داده شده است. بر اساس سیستم گرادیانتی فوق زمان بازداری کمپلکس تری‌کربونیل در حدود 5 دقیقه و بیک مربوط به پرتکتات آزاد در زمان بین 8 تا 10 دقیقه ظاهر می‌شود.

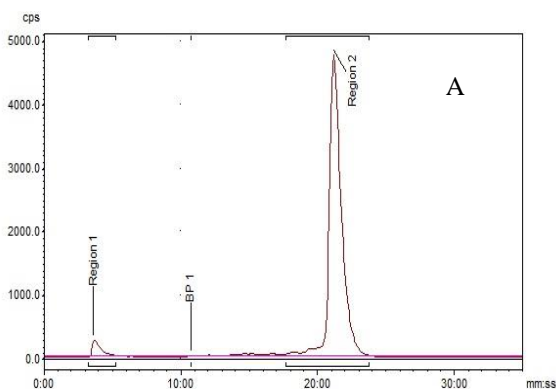


شکل 7 تعیین بازده کمپلکس  $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  با استفاده از دو فاز متحرک 0/1% TFA در آب دیونیزه و 0/1% TFA در استونیتریل

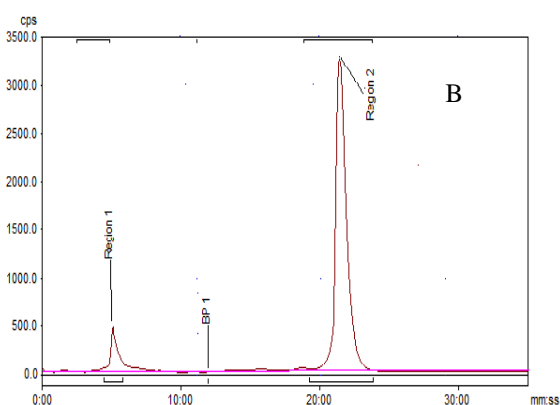
نشاننداری مشتق تیمیدینی 6 با هسته تکنسیوم تری‌کربونیل تری‌آکوا تکنسیوم  $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  و کنترل کیفی آن

نشاننداری مشتق تیمیدینی 6 با افزایش 37-40 مگابکرل از کمپلکس تری‌کربونیل تری‌آکوا تکنسیوم 8 به 50 میکرولیتر از محلول لیگاند انجام شد. 250 میکرولیتر فسفات بافر سالین (pH=7/4, PBS) به مخلوط واکنش نشاننداری اضافه و به مدت 45 دقیقه در دمای 90 درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. از متغیرهای موثر در بازده نشاننداری می‌توان به عوامل اسیدیته و بافر واکنش اشاره کرد. بازده نشاننداری وابستگی زیادی به نوع بافر واکنش از خود نشان داد به گونه‌ای که در هنگام استفاده بافر بی‌کربنات سدیم (0/5M, pH=7/5) بافر سترات سدیم (0/2M, pH=8) عنوان

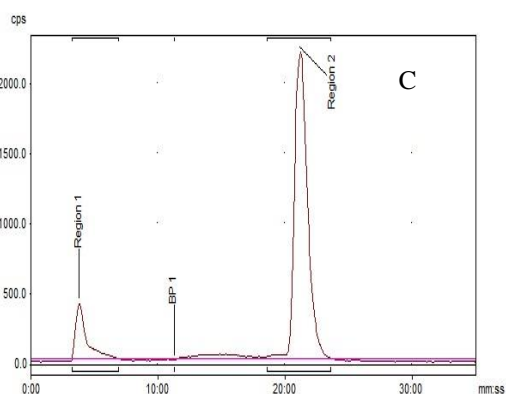
۸۶٪ و با گذشت ۲ ساعت از نشاندارسازی به ۶۷٪ کاهش یافت. میزان آن در ۴ ساعت پس از نشاندارسازی ۴۵٪ به دست آمد (شکل‌های ۱۷-۱۴).



شکل ۱۰. پایداری مشتق تیمیدینی نشاندار ۹ در محیط نرمال سالیین و دمای اتاق در زمان A: صفر ساعت پس از نشاندارسازی



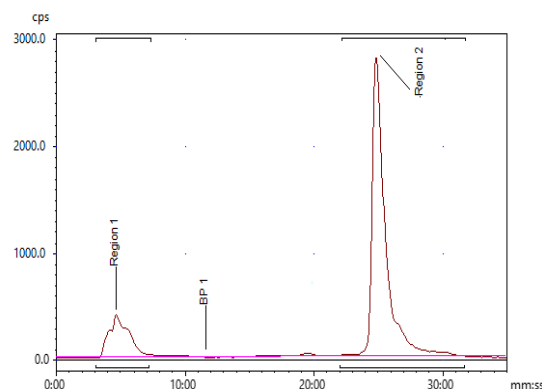
شکل ۱۱. پایداری مشتق تیمیدینی نشاندار ۹ در محیط نرمال سالیین و دمای اتاق در زمان B: ۲ ساعت پس از نشاندارسازی



شکل ۱۲. پایداری مشتق تیمیدینی نشاندار ۹ در محیط نرمال سالیین و دمای اتاق در زمان C: ۴ ساعت پس از نشاندارسازی

بیکرینات سدیم و بافر سیترات سدیم استفاده شد بازده نشاندارسازی مناسب نبود و همچنین با اسیدی و قلیایی شدن محیط واکنش هنگام استفاده از بافر فسفات سالیین، بازده نشاندارسازی بسیار کاهش یافت.

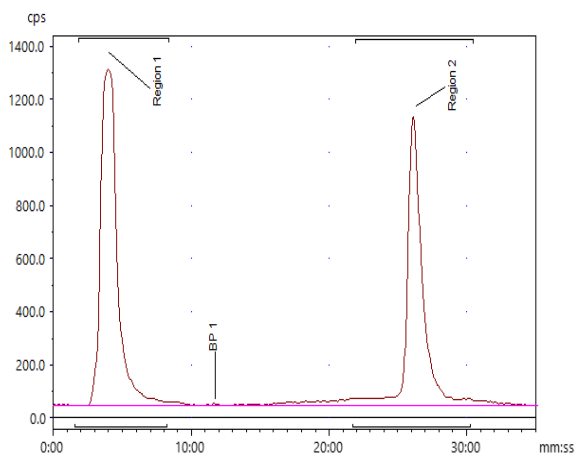
خلوص رادیوشیمیایی محصول به وسیله دستگاه HPLC مجهز به آشکارساز گاما و ستون C18 و با دو فاز متحرک ۰/۱٪ TFA در استونیتریل (حلال A) و ۰/۱٪ TFA در آب (حلال B) انجام شد. در این گرادیانت زمان بازدارگی کمپلکس تری کربونیل تری آکوا تکنسیوم، پرتکتات آزاد و مشتق تیمیدینی نشاندار ۱۰ به ترتیب به ترتیب در حدود ۵ (Region 1)، ۸ و ۲۵ دقیقه (Region 2) (شکل ۹).



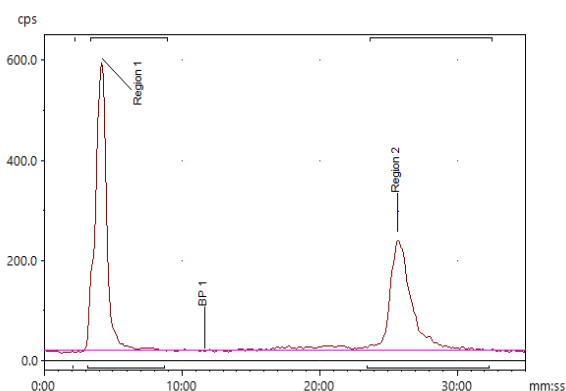
شکل ۹. تعیین بازده واکنش نشاندارسازی مشتق تیمیدینی ۱۰. فاز متحرک: ۰/۱٪ TFA در آب دیونیزه (حلال A) و ۰/۱٪ TFA در استونیتریل: تری کربونیل آزاد و مشتق تیمیدینی نشاندار به ترتیب در حدود ۵ (Region 1) و ۲۵ دقیقه (Region 2)

پایداری مشتق تیمیدینی نشاندار ۹ و ۱۰ در نرمال سالیین پایداری مشتقات تیمیدینی نشاندار ۹ و ۱۰ در محیط نرمال سالیین در دمای اتاق ارزیابی شد. ابتدا نشاندارسازی مشتق تیمیدینی در حضور فسفات بافر سالیین در شرایط بهینه نشاندارسازی مانند بالا انجام گرفت. سپس نرمال سالیین به کمپلکس نشاندار به نسبت حجمی ۱:۳ افزوده و پایداری در زمان‌های صفر، ۲، ۴ و ۶ ساعت توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مجهز به آشکارساز گاما و ستون C18 و با استفاده از دو فاز متحرک ۰/۱٪ TFA در آب دیونیزه (حلال A) و ۰/۱٪ TFA در استونیتریل (حلال B) با گرادیانت ذکر شده انجام شد. میزان خلوص رادیوشیمیایی در زمان‌های متفاوت به شرح زیر می‌باشد: برای مشتق نشاندار شده ۹، در زمان صفر از ۹۶٪، و با گذشت ۲ ساعت از نشاندارسازی به حدود ۹۱٪ کاهش یافت. به همین ترتیب میزان خلوص رادیوشیمیایی در ۴ و ۶ ساعت پس از نشاندارسازی به ترتیب ۸۵/۷ و ۶۴/۲٪ به دست آمد (شکل‌های ۱۳-۱۰). میزان خلوص رادیوشیمیایی ترکیب نشاندار شده ۱۰، در زمان صفر



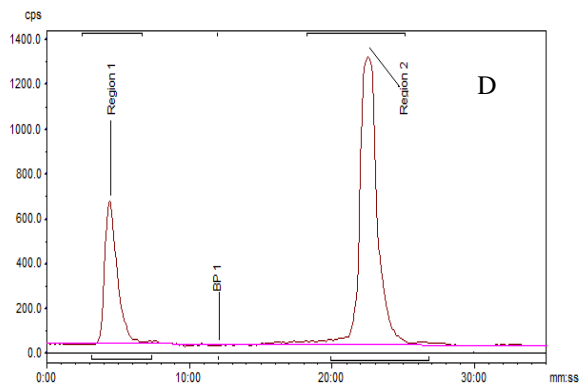


شکل ۱۶. پایداری مشتق تیمیدینی نشاندار ۱۰ در محیط نرمال سالین و دمای اتاق در زمان C: ۴ ساعت پس از نشاندارسازی

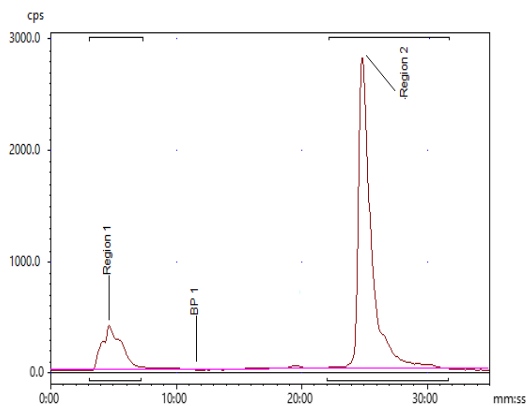


شکل ۱۷. پایداری مشتق تیمیدینی نشاندار ۱۰ در محیط نرمال سالین و دمای اتاق در زمان D: ۶ ساعت پس از نشاندارسازی

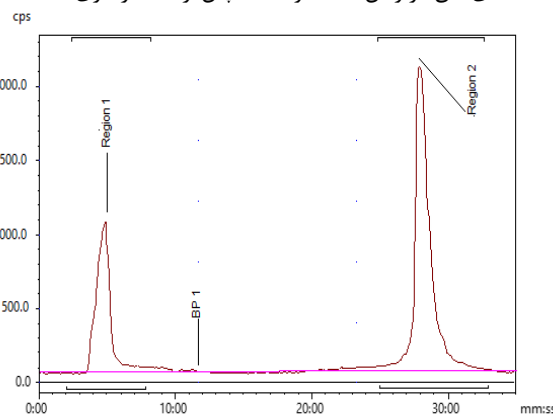
ضریب توزیع. در بررسی ضریب توزیع مشتق تیمیدینی نشاندار شده ۹ و ۱۰، از فسفات بافر سالین و n-اکتانول استفاده شد. بعد از جداسازی، یک میلی لیتر از هر دو فاز n-اکتانول و فسفات بافر سالین را در تیوپ‌های جداگانه ریخته و هر یک به وسیله دستگاه گاما کانتور شمارش گردید. میزان آبدوستی ترکیب نشاندار ۹ و ۱۰ با محاسبه لگاریتم مقدار اکتیویته شمارش شده در لایه چربی (n-اکتانول) به مقدار آن در لایه آبی (فسفات بافر سالین)، به ترتیب مقادیر  $1/42 \pm 0/17$  و  $1/89 \pm 0/17$  به دست آمدند.



شکل ۱۳. پایداری مشتق تیمیدینی نشاندار ۹ در محیط نرمال سالین و دمای اتاق در زمان D: ۶ ساعت پس از نشاندارسازی



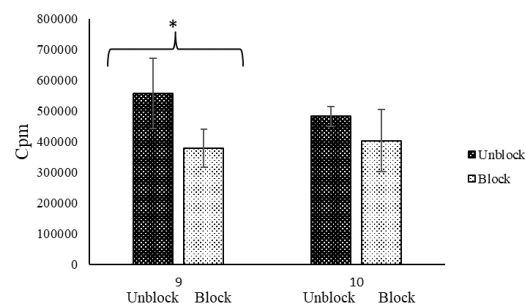
شکل ۱۴. پایداری مشتق تیمیدینی نشاندار ۱۰ در محیط نرمال سالین و دمای اتاق در زمان A: ۰ ساعت پس از نشاندارسازی



شکل ۱۵. پایداری مشتق تیمیدینی نشاندار ۱۰ در محیط نرمال سالین و دمای اتاق در زمان B: ۲ ساعت پس از نشاندارسازی

وسیله روش‌های PET و SPECT نقش مهمی در تشخیص، میزان پیشرفت و بررسی پاسخ به درمان سرطان دارند. زیودودین که یک آنالوگ تیمیدینی می‌باشد و گروه ۳- هیدروکسیل در آن با یک گروه آزید جایگزین شده است. این داروی ضدویروس، پرودراگی می‌باشد که توسط آنزیم‌های سلولی در موقعیت ۵' فسفریله شده و به شکل تری‌فسفات فعال در می‌آید. زیودودین تری‌فسفات با آنزیم ترانس کریپتاز معکوس و طولیل شدن زنجیره‌ی DNA ویروس تداخل می‌کند. گزارشات نشان داده که حضور گروه آزید در موقعیت ۳' تیمیدین نه تنها تاثیری در فعالیت آنزیم تیمیدین فسفاتاز نداشته و علی‌رغم این‌که تمایل آن‌ها به آنزیم تیمیدین کیناز حفظ می‌گردد، به عنوان یک جایگاه مناسب و قابل توجه جهت اتصال با کمپلکس‌های تکنسیوم در نظر گرفته می‌شود [۱۲]. امروزه به خاطر دسترسی کم به سیکلوترون و قیمت بالای رادیونوکلوئیدهای پوزیترون‌دهنده، تولید کمپلکس‌های فلزی - نوکلئیک اسید در تحقیقات آزمایشگاهی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. تکنسیوم- $^{99m}\text{Tc}$  به دلیل داشتن نیمه عمری در حدود ۶ ساعت شرایط مناسبی را برای تصویربرداری بالینی فراهم می‌کند زیرا این نیمه عمر از سویی فرصت کافی برای تصویربرداری را فراهم می‌سازد و از سوی دیگر دریافت بیش از حد مجاز اشعه به بیمار کاهش می‌یابد. هم‌چنین انرژی فوتون گامای منتشره از آن در حدود ۱۴۰ هزار الکترون ولت بوده که هم برای جلوگیری از تحمیل دوز بالا به یک بیمار، به اندازه کافی کوچک است و هم برای نفوذ در بافت‌ها و آشکارسازی از میان ارگان‌های داخلی نیز کافی می‌باشد. علاوه بر این، دسترسی آسان و ارزان قیمت از طریق ژنراتور  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$  نیز سبب جذابیت بیشتر آن در نشاندارسازی بیومولکول‌های متفاوت می‌شود [۲۴]. در مطالعه حاضر لیگاندهای اتیل-۲- (پروپینیل آمینو) استات و ۲-آمینو-N-پروپینیل بنزآمید به ترتیب از طریق واکنش اتیل ۲-آمینو استات هیدروکلرید با پروپارژیل برمید و ایزاتوییک انیدرید با پروپارژیل آمین جهت اتصال به گروه آزیدی در ساختار زیودودین و سپس نشاندارسازی با تکنسیوم- $^{99m}\text{Tc}$  سنتز شدند. داروی ضد ویروس زیودودین از موقعیت گروه آزید موجود در ساختار خود از طریق واکنش کلیک در حضور سولفات مس (II) و سدیم آسکوربات در مخلوطی از حلال‌های ترشیو بوتیل الکل و آب (۱:۱) به دو لیگاند مذکور متصل گردید. در طی این واکنش‌ها با تشکیل حلقه ۳،۲،۱-تریازول توانستیم به کی‌لیت‌دهنده‌های مورد نظر جهت نشاندارسازی با کمپلکس  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^+$ ، که دارای خلوص رادیوشیمیایی مناسبی می‌باشد، دست یابیم. پایداری رادیوتیرس با گذشت

میزان جذب آپتیک مشتقات تیمیدینی نشاندار ۹ و ۱۰ در رده سلولی A549. در بررسی آپتیک مشتق تیمیدینی نشاندار ۹ و ۱۰، از رده سلولی A549 که مرتبط با سلول‌های سرطانی ریه بوده و دارای بیان بالای آنزیم TK-1 می‌باشند استفاده شد. در روش بلاکینگ، سلول‌ها ابتدا با زیودودین نشاندار نشده انکوبه شدند و سپس در معرض محیط کشت داغ حاوی مشتق تیمیدینی نشاندار قرار گرفتند. مقایسه میزان اکتیویته در سلول‌های دو گروه Block و Unblock برای ترکیب ۹، تفاوت حدود ۱/۴۸ برابر و اختلاف معناداری از خود نشان داد (شکل ۱۷). با استفاده از آزمون آماری T-test کاهش ورود مشتق تیمیدینی نشاندار نسبت به سلول‌های بلوک شده تایید شد ( $P < 0.05$ ). برای مشتق ۱۰، تفاوت حدود ۱/۲۸ برابر و اختلاف معناداری از خود نشان نداد (شکل ۱۸). مقادیر به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SD}$  نمایش داده شده است و تعداد بشقابک



سلولی در هر بخش حداقل ۶ عدد بوده است.

شکل ۱۸. بررسی عملکرد مشتق تیمیدینی نشاندار ۹ و ۱۰ در سلول‌های A549 با استفاده از تست بلاکینگ.  $P < 0.05$ : \* اختلاف معنادار گروه‌های سلولی unblock و block در مشتق

## بحث و نتیجه‌گیری

بر طبق گزارش WHO سرطان علت ۷/۴ میلیون مرگ در جهان محسوب می‌شود. بنابراین تلاش برای تشخیص و درمان سرطان در مراحل اولیه آن، جهت دستیابی به نتایج بهتر درمانی از اهداف اصلی در دنیای امروز محسوب می‌شود [۱۶]. حفظ تکثیر سلولی یکی از نشانه‌های سرطان است و میزان تقسیم سلولی پیش‌آگهی مهمی برای بدخیمی است. نوکلئوزیدها، نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک ابزار مهمی را در درک درستی از فرایندهای سلولی فراهم می‌کنند و آنالوگ‌های نشاندار شده آن‌ها توانایی پیگیری سرطان‌ها و سایر بیماری‌ها را از طریق تصویربرداری مولکولی فراهم می‌آورد [۶، ۷، ۱۷، ۲۰]. به دلیل بیش‌تر بودن تعداد نوکلئوتید تیمیدین در DNA آنالوگ‌های تیمیدینی مورد توجهی بیش‌تری قرار گرفتند چرا که به وسیله اندازه‌گیری فرآیندهای متابولیکی تیمیدین، می‌توان میزان تکثیر سلولی را اندازه‌گیری کرد [۸، ۱۷، ۱۹، ۲۳]. تصویربرداری به

نشانداری بدون بار، با افزایش طول فاصله‌ساز میزان فسفریله شدن آن‌ها نیز افزایش می‌یابد. به طور مشابه میزان جذب سلولی در کمپلکس‌های بدون بار و هم‌چنین با افزایش طول فاصله‌ساز افزایش می‌یابد. نتایج نشان داد که با افزایش لیپوفیلیسیته کمپلکس‌های نشانداری (با طول شدن طول فضا‌ساز) و هم‌چنین خنثی بودن کمپلکس‌ها میزان جذب سلولی افزایش می‌یابد [۲۷]. در سال ۲۰۱۳، Xiaojiang Duan و همکارانش ترکیب تیمیدین ایزوسیانیید (CN-TdR) را سنتز و سپس این ترکیب را با  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  و هسته  $[\text{M}(\text{CO})_3, \text{Re}]^+$  کمپلکس‌های  $[\text{M}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{CN-TdR})_3]^+$  و  $[\text{M}^{99m}\text{Tc}(\text{CN-TdR})_6]^+$  به ترتیب در سالیین و بافر سترات در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۳۰ دقیقه با خلوص رادیوشیمیایی بالا تهیه شدند. مقدار عددی Log P برای رادیوتریسرها فوق به ترتیب  $1/31$  و  $-3/37$  گزارش شد که نشانگر هیدروفیل بودن آن‌ها بود. مطالعات ورود به سلول در رده سلولی کارسینوما کلوئرکتال انسانی (HTC116) با و بدون درمان با 5-FU و سپس بلاک به وسیله ۱۰ میلی‌گرم تیمیدین سرد صورت گرفت. مطالعات ورود به سلول جذب ترکیبات نشانداری را از ترنسپورت‌های سلولی تأیید کرد [۱۹]. در سال ۲۰۱۶ آنالوگ‌های تیمیدینی  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-}12\text{N}_3\text{-n-TdR}$  را (n نشان‌دهنده طول فضا‌ساز می‌باشد) با هسته  $[\text{M}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  در  $\text{PBS}$  ( $\text{pH}=7/2$ ) و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه با خلوص رادیوشیمیایی بالا نشانداری شدند ضریب توزیع ترکیبات نشان‌دهنده هیدروفیل بودن تمامی مشتقات بود. در مطالعات صورت گرفته بر رده سلولی S180 با استفاده از تست بلاکینگ با غلظت‌های متفاوت از تیمیدین سرد (صفر، نیم، یک و ۲ میلی‌گرم) تفاوت معنی‌داری بین جذب سلولی میان گروه کنترل و گروه بلاک مشاهده نشد [۲۸]. در سال ۲۰۱۸، Xiaojiang Duan و همکارانش در مطالعه دیگری مشتقات تیمیدینی دی‌تیوکربومات DTC-n-TdR را با موفقیت سنتز و با هسته  $[\text{M}^{99m}\text{Tc}(\text{I})(\text{CO})_3]^+$  در سالیین در دمای اتاق و مدت زمان ۲۰ دقیقه نشانداری کردند. ضریب توزیع گزارش شده نشان‌دهنده لیوفیل بودن مشتقات نشانداری بود. مطالعات ورود به سلول در رده سلولی کارسینوم کلوئرکتال HTC116 با و بدون درمان با 5-FU و بلاک به وسیله ۱۰ میلی‌گرم تیمیدین سرد صورت گرفت. نتایج نشان داد حضور 5-FU و تیمیدین بر جذب تومورها اثر داشته است و تفاوت معناداری بین تمامی گروه‌ها با گروه کنترل در تست بلاکینگ مشاهده گردید [۲۹].

زمان در محیط نرمال سالیین و دمای اتاق بررسی شد. زیدوودین نشانداری (۹ و ۱۰) با نسبت مشخص با محلول نرمال سالیین مخلوط شد و خلوص رادیوشیمیایی آن تا ۶ ساعت با روش HPLC بررسی شد. میزان پایداری ترکیبات ۹ و ۱۰ که در زمان صفر ۹۶ و ۸۶٪ به‌دست آمده بود، بعد از ۶ ساعت به ترتیب به ۶۴/۲ و ۴۵٪ کاهش پیدا کرد. RSchibli و همکارانش برای اولین بار در سال ۲۰۰۳، شش مشتق کربوکسامیدی از آمینو تیمیدین با طول‌های متفاوتی از زنجیره آلکیلی سنتز و با کمپلکس  $[\text{M}(\text{CO})_3, \text{M}^{99m}\text{Tc}, \text{Re}]^+$  در نشانداری شدند. آن‌ها با استفاده از اندازه‌گیری غلظت dTMP یا ADP توانایی بازدارندگی فعالیت فسفریلاسیون تیمیدین توسط آنزیم TK<sub>1</sub> و HSVTK<sub>1</sub> را به صورت برون‌تنی بررسی کردند. نتایج نشان داد که با افزایش طول فضا‌ساز قدرت کمپلکس‌ها در بازدارندگی فعالیت HSV TK<sub>1</sub> و TK<sub>1</sub> افزایش یافته است [۲۵]. در سال ۲۰۰۷، Sofie celen و همکارانش آنالوگ تیمیدین را با راشلاتور MAMA (مونوآمین مونوآمید دی‌تیول:  $^{99m}\text{Tc-MAMA-propyl-thymidine}$  کانژوگه و با  $^{99m}\text{Tc}$  نشانداری کردند میزان لیپوفیلیسیته ترکیب نشانداری با محاسبه ضریب توزیع ارزیابی شد. logP ترکیب فوق برابر یک بود که نشان‌دهنده لیوفیل بودن این آنالوگ می‌باشد [۲۶]. در سال ۲۰۰۷، Bao Teng و همکارانش تأثیر افزایش طول فضا‌ساز در میزان خلوص رادیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها ۴ آنالوگ‌های تیمیدینی با ساختار یکسان و طول زنجیره هیدروکربنی متفاوت سنتز و به منظور پی بردن به شرایط بهینه نشانداری این ترکیبات با  $^{99m}\text{Tc}$  در زمان و دماهای مختلف نشانداری شدند. شرایط بهینه نشانداری دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۱۵ دقیقه انتخاب شد. نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش زمان نشانداری تأثیری چندانی بر میزان خلوص رادیوشیمیایی و درصد نشانداری نداشت، اما با افزایش طول فضا‌ساز درصد خلوص رادیوشیمیایی کاهش یافته است [۲۰]. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۸ توسط Dominique Desbouis و همکارانش انجام شد دو سری از مشتقات تیمیدینی سنتز و با استفاده از هسته  $[\text{M}(\text{CO})_3, \text{Re}]^+$  در  $\text{PBS}$  ( $\text{pH}=7/4$ ) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و در مدت زمان ۴۵ دقیقه نشانداری شدند سرعت فسفریله شدن و میزان تمایل ورود به سلول این ترکیبات نشانداری در رده سلولی نوروبلاستوما انسانی (SKNM)، بر اساس تفاوت در بار و افزایش طول فاصله‌ساز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد در طول ثابتی از فاصله‌ساز، کمپلکس‌های بدون بار یا خنثی به میزان بیشتری نسبت به کمپلکس‌های باردار فسفریله می‌شوند. هم‌چنین در کمپلکس

پرتوزا دانشگاه علوم پزشکی مازندران (ساری، ایران) با شماره گرت ۲۹۰۶ و ۲۸۴۹ بوده است.

### مشارکت و نقش نویسندگان

زهره نوع پرست: ایده و طراحی مطالعه، نشاندارسازی لیگاندها و عوامل کی‌لیت‌دهنده، آنالیز و تفسیر نتایج و نگارش مقاله، سیده مهدیه هاشمی: سنتز و شناسایی لیگاندها و ترکیبات کی‌لیت‌دهنده، نگارش نسخه اول مقاله، سکینه جوکار و فاطمه تقی‌پور: جمع‌آوری داده‌ها. همه نویسندگان نتایج را بررسی و نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

### منابع

- [1] Liu X, Ren J, Su L, Gao X, Tang Y, Ma T, et al. Novel hybrid probe based on double recognition of aptamer-molecularly imprinted polymer grafted on upconversion nanoparticles for enrofloxacin sensing. *Biosens Bioelectron* 2017; 87: 203-208. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.08.051> PMID:27566392
- [2] Tjuvajev JG, Blasberg RG. In vivo imaging of molecular-genetic targets for cancer therapy. *Cancer Cell* 2003; 3: 327-332. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(03\)00082-5](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(03)00082-5)
- [3] Hong H, Zhang Y, Sun J, Cai W. Positron emission tomography imaging of prostate cancer. *Amino Acids* 2010; 39: 11-27. <https://doi.org/10.1007/s00726-009-0394-9> PMID:19946787 PMCID:PMC2883014
- [4] Van Den Bossche B, Van de Wiele C. Receptor imaging in oncology by means of nuclear medicine: current status. *J Clin Oncol* 2004; 22: 3593-3607. <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.10.216> PMID:15337810
- [5] Eckelman WC. Unparalleled contribution of technetium-99m to medicine over 5 decades. *JACC: Cardiovasc Imag* 2009; 2: 364-368. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2008.12.013> PMID:19356582
- [6] Unak P, Teksoz S, Biber Muftuler F, Medine E, Acar C, Yurekli Y. <sup>99m</sup>Tc glucoheptonate-guanine: synthesis, biodistribution and imaging in animals. *J Radioanal Nucl Chem* 2008; 275: 379-385. <https://doi.org/10.1007/s10967-007-6934-4>
- [7] Tsao N, Chanda M, Yu DF, Kurihara H, Zhang YH, Mendez R, et al. <sup>99m</sup>Tc-N4amG: Synthesis biodistribution and imaging in breast tumor-bearing rodents. *Appl Radiat Isot* 2014; 72: 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2012.07.018> PMID:23208240 PMCID:PMC3881426
- [8] D'Andrea G, Brisdelli F, Bozzi A. AZT: an old drug with new perspectives. *Curr Clin Pharmacol* 2008; 3: 20-37. <https://doi.org/10.2174/157488408783329913> PMID:18690875
- [9] Toyohara J, Nariai T, Sakata M, Oda K, Ishii K, Kawabe T, et al. Whole-body distribution and brain tumor imaging with <sup>111</sup>C-4DST: a pilot study. *J Nucl Med* 2011; 52: 1322-1328. <https://doi.org/10.2967/jnumed.111.088435> PMID:21764794
- [10] Lynx MD, Kang BK, McKee EE. Effect of AZT on thymidine phosphorylation in cultured H9c2, U-937, and Raji cell lines. *Biochem Pharmacol* 2008; 75: 1610-1615. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.01.006> PMID:18295188 PMCID:PMC2364649
- [11] Brown T, Sigurdson E, Rogatko A, Broccoli D. Telomerase inhibition using azidothymidine in the HT-29 colon cancer cell line. *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 910.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ضریب توزیع مشتقات تیمیدینی نشاندار شده که به منظور ارزیابی میزان آبدوستی یا چربی دوستی آن‌ها و با محاسبه لگاریتم مقدار اکتیویته شمارش شده لایه چربی (n-اکتانول) به مقدار آن در لایه آبی (PBS) به دست آمده (مقادیر  $1/42 \pm 0/17$  و  $1/89 \pm 0/17$ ) بیانگر لیوفیل بودن ترکیبات نشاندار می‌باشد. در بررسی میزان ورود کمپلکس‌های نشاندار به سلول‌های رده سلولی A549 (سرطان ریه سلول غیر کوچک؛ که دارای بیان بالای آنزیم TK1 می‌باشد) نتایج به دست آمده از تست بلاکینگ و مقایسه میزان اکتیویته در دو گروه Block و Unblock برای ترکیب ۹، تفاوت حدود  $1/48$  برابر و اختلاف معناداری از خود نشان داد. با استفاده از آزمون آماری t-test، کاهش معنادار ورود مشتق تیمیدینی نشاندار ۹ در سلول‌های بلوک شده تایید شد ( $P < 0/05$ ). در حالی که مقایسه میزان اکتیویته در دو گروه Block و Unblock برای ترکیب ۱۰، تفاوت حدود  $1/28$  برابر و اختلاف معناداری از خود نشان نداد. بر اساس مطالعات قبلی انجام شده بر روی مشتقات تیمیدینی نشاندار، اختلاف کم میان دو گروه Block و Unblock تا حدود زیادی به لیوفیل بودن ساختار مربوط می‌شود زیرا کمپلکس‌های لیوفیل علاوه بر ورود از طریق ترانسپورترهای نوکلئوزیدی می‌توانند به صورت غیر اختصاصی از طریق انتشار ساده به داخل سلول نفوذ نمایند. این بررسی‌ها امکان استفاده از آزیدوتیمیدین‌های نشاندار شده با کمپلکس تری‌کربونیل تری‌اکوا تکنسیوم را به عنوان ابزاری جهت تصویربرداری مولکولی سرطان نشان می‌دهد. با توجه به این‌که تکثیر سلولی یکی از خصوصیات مهم سلول‌های توموری است، ردیاب‌های نوکلئوتیدی نشاندار زمینه‌ای را برای اندازه‌گیری تقسیم سلولی فراهم می‌کنند. از سوی دیگر در حین تقسیم سلولی و دوبله شدن DNA، از آنجایی که مصرف نوکلئوزیدها در سلول‌های توموری در حال تقسیم نسبت به سلول‌های نرمال بیش‌تر بوده بنابراین آنالوگ‌های نوکلئوزیدی نشان‌دار شده می‌توانند مارکرهای ایده جهت تصویربرداری از تومورها باشند [۷، ۲۲، ۲۳].

### محدویت‌ها

عدم دسترسی آسان، هزینه بالا و زمان‌بر بودن تهیه مواد اولیه شیمیایی به ویژه AZT، عدم دسترسی به کیت ISO Link جهت تهیه راحت‌تر تکنسیوم تری‌کربونیل.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش موضوع پایان‌نامه سکینه جوکار و فاطمه تقی‌پور به عنوان دانشجوی کارشناسی ارشد علوم داروهای

- AZT, for tumor imaging by positron emission tomography. *EJNMMI Res* 2015; 5: 45.  
<https://doi.org/10.1186/s13550-015-0124-0>  
 PMid:26337804 PMCID:PMC4597405
- [24] Anonymous. Technetium-99m radiopharmaceuticals: status and trends. Technical Reports Series. p. 41. Vienna: International Atomic Energy Agency. 2009.
- [25] Schibli R, Netter M, Scapozza L, Birringer M, Schelling P, Dumas C, et al. First organometallic inhibitors for human thymidine kinase: synthesis and in vitro evaluation of rhenium (I)- and technetium (I)-tricarbonyl complexes of thymidine. *J Organom Chem* 2003; 668: 67-74.  
[https://doi.org/10.1016/S0022-328X\(02\)02100-9](https://doi.org/10.1016/S0022-328X(02)02100-9)
- [26] Celen S, de Groot T, Balzarini J, Vunckx K, Terwinghe C, Vermaelen P, et al. Synthesis and evaluation of a 99mTc-MAMA-propyl-thymidine complex as a potential probe for in vivo visualization of tumor cell proliferation with SPECT. *Nucl Med Biol* 2007; 34: 283-291.  
<https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2007.01.003>  
 PMid:17383578
- [27] Desbouis D, Struthers H, Spiwok V, Küster T, Schibli R. Synthesis, in vitro, and in silico evaluation of organometallic technetium and rhenium thymidine complexes with retained substrate activity toward human thymidine kinase type 1. *J Med Chem* 2008; 51: 6689-6698.  
<https://doi.org/10.1021/jm800530p>  
 PMid:18837546
- [28] Duan X, Liu T, Zhang Y, Zhang J. Synthesis and biological evaluation of novel 99mTc (CO) 3-Labeled thymidine analogs as potential probes for tumor proliferation imaging. *Molecules* 2016; 21: 510.  
<https://doi.org/10.3390/molecules21040510>  
 PMid:27104501 PMCID:PMC6274394
- [29] Duan X, Ruan Q, Gan Q, Song X, Zhang X, Zhang J. Radiosynthesis and evaluation of novel 99mTc (CO) 3-labelled thymidine dithiocarbamate derivatives for tumor imaging with SPECT. *J Organom Chem* 2018; 868: 154-163.  
<https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2018.05.009>
- [25] Schibli R, Netter M, Scapozza L, Birringer M, Schelling P, Dumas C, et al. First organometallic inhibitors for human thymidine kinase: synthesis and in vitro evaluation of rhenium (I)- and technetium (I)-tricarbonyl complexes of thymidine. *J Organom Chem* 2003; 668: 67-74.
- [26] Celen S, de Groot T, Balzarini J, Vunckx K, Terwinghe C, Vermaelen P, et al. Synthesis and evaluation of a 99mTc-MAMA-propyl-thymidine complex as a potential probe for in vivo visualization of tumor cell proliferation with SPECT. *Nucl Med Biol* 2007; 34: 283-291.
- [27] Desbouis D, Struthers H, Spiwok V, Küster T, Schibli R. Synthesis, in vitro, and in silico evaluation of organometallic technetium and rhenium thymidine complexes with retained substrate activity toward human thymidine kinase type 1. *J Med Chem* 2008; 51: 6689-6698.
- [28] Duan X, Liu T, Zhang Y, Zhang J. Synthesis and biological evaluation of novel 99mTc (CO) 3-Labeled thymidine analogs as potential probes for tumor proliferation imaging. *Molecules* 2016; 21: 510.
- [29] Duan X, Ruan Q, Gan Q, Song X, Zhang X, Zhang J. Radiosynthesis and evaluation of novel 99mTc (CO) 3-labelled thymidine dithiocarbamate derivatives for tumor imaging with SPECT. *J Organom Chem* 2018; 868: 154-163.
- <https://doi.org/10.1245/ASO.2003.03.032>  
 PMid:14527910
- [12] Struthers H, Viertl D, Kosinski M, Spingler B, Buchegger F, Schibli R. Charge dependent substrate activity of C3' and N3 functionalized, organometallic technetium and rhenium-labeled thymidine derivatives toward human thymidine kinase 1. *Bioconjug Chem* 2010; 21: 622-634.  
<https://doi.org/10.1021/bc900380u>  
 PMid:20359195
- [13] Guggenheim KG, Toru H, Kurth MJ. One-pot-Two-step Cascade synthesis of quinazolinotriazolobenzodiazepines. *Org Lett* 2012; 14: 3732-3735.  
<https://doi.org/10.1021/ol301592z>  
 PMid:22746550 PMCID:PMC3486955
- [14] Farjadmand F, Arshadi H, Moghimi S, Nadri H, Eghtedari M, Jafarpour F, et al. Synthesis and evaluation of novel quinazolinone-1,2,3-triazoles as inhibitors of lipoxigenase. *J Chem Res* 2016; 40: 188-191. (Persian).  
<https://doi.org/10.3184/174751916X14558913889738>
- [15] Alberto R, Ortner K, Wheatley N, Schibli R, Schubiger AP. Synthesis and properties of boranocarbonate: a convenient in situ CO source for the aqueous preparation of [(99m)Tc(OH(2))3(CO)3]+. *J Am Chem Soc* 2001; 123: 3135-3136.  
<https://doi.org/10.1021/ja003932b>  
 PMid:11457025
- [16] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. *Cancer J Clin* 2017; 67: 7-30.  
<https://doi.org/10.3322/caac.21387>  
 PMid:28055103
- [17] Eary JF, Mankoff DA, Spence AM, Berger MS, Olshen A, Link JM, et al. 2-[C-11] thymidine imaging of malignant brain tumors. *Cancer Res* 1999; 59: 615-621.
- [18] Yang DJ, Ozaki K, Oh CS, Azhdarinia A, Yang T, Ito M, et al. 99mTc-EC-guanine: synthesis, biodistribution, and tumor imaging in animals. *Pharm Res* 2005; 22: 1471-1479.  
<https://doi.org/10.1007/s11095-005-6157-8>  
 PMid:16132359
- [19] Duan X, Zhang X, Gan Q, Ruan Q, Song X, Zhang J. Novel 99m Tc-labelled complexes with thymidine isocyanide: radiosynthesis and evaluation as potential tumor imaging tracers. *Med Chem Comm* 2018; 9: 705-712.  
<https://doi.org/10.1039/C7MD00635G>  
 PMid:30108961 PMCID:PMC6071732
- [20] Teng B, Bai Y, Chang Y, Chen S, Li Z. Technetium-99m-labeling and synthesis of thymidine analogs: Potential candidates for tumor imaging. *Bioorg Med Chem Lett* 2007; 17: 3440-3444.  
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.03.086>  
 PMid:17449246
- [21] Wang L, Lieberman BP, Ploessl K, Kung HF. Synthesis and evaluation of 18F labeled FET prodrugs for tumor imaging. *Nucl Med Biol* 2014; 41: 58-67.  
<https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2013.09.011>  
 PMid:24183614 PMCID:PMC3895945
- [22] Zhang Y, Dai X, Kallmes DF, Pan D. Synthesis of a technetium-99m-labeled thymidine analog: a potential HSV1-TK substrate for non-invasive reporter gene expression imaging. *Tetrahedron Lett* 2004; 45: 8673-8676.  
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.09.145>
- [23] Tahara T, Zhang Z, Ohno M, Hirao Y, Hosaka N, Doi H, et al. A novel 11 C-labeled thymidine analog, [11 C]



# Preparation and evaluation of $^{99m}\text{Tc}$ -labeled zidovudine function as an analog of thymidine in the diagnosis of human lung cancer cells

Seyedeh Mahdiah Hashemi (Ph.D)<sup>1</sup>, Sakineh Jokar (M.Sc)<sup>2</sup>, Fatemeh Naghipour (M.Sc)<sup>2</sup>, Zohreh Noaparast (Ph.D)<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup> – Dept. of Medicinal Chemistry, Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> – Dept. of Radiopharmacy, Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

\* Corresponding author. +98 11- 33542472

noaparast@yahoo.com

Received: 15 Nov 2021 ; Accepted: 16 Jan 2022

**Introduction:** Labeled nucleotide detectors provide a basis for measuring cell division. Zidovudine is a prodrug that is phosphorylated by cellular enzymes at the 5' position and converted to active triphosphate. Zidovudine triphosphate interferes with the reverse transcriptase enzyme and lengthens the viral DNA strand.

**Materials and Methods:** Ethyl-2-propynyl acetate and 2-amino-N-propynyl benzamide ligands were obtained by the reaction of ethyl-2-amino-acetate hydrochloride with propargyl bromide and isatuic anhydride with propargylamine, respectively. Then, a click reaction was performed between the acetylene group of the ligands and the azide group of zidovudine, and a 1,2,3-triazole ring was formed in the chelating products. The resulting structures were labeled with  $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  complex. Qualitative control and then radiotherapy stability in normal saline were performed using HPLC. In vitro studies were performed to evaluate the accumulation of radiotherapy using the blocking method.

**Results:** The chemical structures of chelating compounds were confirmed by proton and carbon magnetic resonance spectroscopy and elemental analysis. Using optimal conditions, the thymidine analogs were labeled with the desired yield. The labeled compounds had good stability in normal saline and showed entry into lung cancer cells.

**Conclusion:** These studies demonstrated the capability of labeled azidothymidine analogs as a tool for molecular imaging of cancer.

**Keywords:** Zidovudine, Thymidine, Tricarbonyl Complex, Technetium, Lung Cancer, Synthesis