دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و یکم، شماره ۳، صفحه ۲۴۱ - ۲۲۸ (مرداد و شهریور ۱۳۹۷)
Iran South Med J 2018; 21(3): 228-241

طراحی، سنتز و نشاندار سازی پپتید GPRPILE با 18FDG برای تصویربرداری از فیبرین جهت تشخیص ترومبوز

صدیقه رضائیان‌پور (PhD)[۱*]، مونا مسیب‌نیا (PhD)[۲]، عاطفه حاجی آقابزرگی (PhD)[۳]، ابوالقاسم مقیمی (PhD)[۱]، سعید بلالائی (PhD)[۴]، ثریا شاه‌حسینی (PhD)[۵**]

[۱] گروه شیمی، دانشگاه آزاد واحد شمال تهران، تهران، ایران
[۲] گروه داروسازی هسته‌ای، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۳] دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
[۴] مرکز تحقیقاتی شیمی پپتید، دانشگاه خواجه نصیرالدین طوسی، تهران، ایران
[۵] گروه شیمی دارویی و داروسازی هسته‌ای، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات فناوری پروتئین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۹۶/۸/۱۱- پذیرش مقاله: ۹۶/۱۱/۲)

چکیده

زمینه: در تصویربرداری پت، فلوئور-۱۸ بهترین رادیونوکلید می‌باشد. نشاندار سازی پپتید به طور مستقیم با فلوئور-۱۸ مشکل است و از روش غیرمستقیم و استفاده از ترکیبات واسطه حاوی فلوئور-۱۸ استفاده می‌شود. به دلیل در دسترس بودن 18FDG در اغلب مراکز پت، 18FDG به عنوان یک ترکیب واسطه از پتانسیل بالائی برای نشاندار کردن پپتیدها برخوردار می‌باشد. در مطالعه حاضر یک پپتید خطی حاوی گروه آمینواکسی برای تصویربرداری از فیبرین طراحی، سنتز و با رادیوداروی فلوئورو دزوکسی گلوکز 18FDG نشاندار شد.

مواد و روش‌ها: مطالعات داکینگ با استفاده از نرم‌افزار AutoDock ویرایش ۴/۱ و نرم‌افزار HEX صورت گرفت و پپتید خطی Aoe-GPRPILE از روش Fmoc بر روی فاز جامد سنتز و سپس با استفاده از 18FDG نشاندار گردید. خلوص رادیوشیمیائی، پایداری پپتید نشاندار و سرد در پلاسمای انسانی و PBS با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی تعیین گردید. نسبت حلالیت چربی به آب (LogP) پپتید نشاندار محاسبه گردید.

یافته‌ها: نتایج محاسبات داکینگ و فارماکوفور با استفاده از نرم‌افزار HEX نشان دهنده تمایل بالای توالی طراحی شده نسبت به فیبرین است (E Total=۰/۰۱). دستگاه LC-Mass ساختمان پپتید سنتز شده را تأئید کرد. پپتید تا ۲۴ ساعت در پلاسمای انسانی و بافر PBS پایدار بود. نشاندارسازی با استفاده از ۰/۲ میلی‌گرم پپتید، 1 mCi 18FDG در حرارت ۹۰°C به مدت ۳۰ دقیقه، pH=۵ با خلوص رادیوشیمیائی بالای ۹۵ درصد حاصل شد. پایداری پپتید نشاندار تا ۲ ساعت در پلاسمای انسانی بیش از ۹۵ درصد بود. نسبت حلالیت چربی به آب LogP=-۱/۵ بدست آمد.

نتیجه‌گیری: 18FDG از پتانسیل بالائی در نشاندارسازی پپتیدها با روش غیرمستقیم برخوردار می‌باشد. در این مطالعه پپتید Aoe-GPRPILE سنتز و با استفاده از گروه آمینواکسی موجود در ساختار با 18FDG با راندمان بالا و خلوص مناسب نشاندار گردید. آمینو اکسی به عنوان یک گروه واسطه در آخرین مرحله مانند یک آمینو اسید بر روی سکانس پپتیدی با حداقل تأثیر بر روی خصوصیات پپتید اضافه شده و به صورت انتخابی پیوند پایدار اکسیم (oxime) با گروه آلدئیدی 18FDG ایجاد می‌کند.

واژگان کلیدی: ترومبوز، فیبرین، نشاندار سازی با 18FDG، پپتید

** تهران، گروه شیمی دارویی و داروسازی هسته‌ای، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران. ایران
Email: s_shahoseini@sbmu.ac.ir
*ORCID: 0000-0002-0451-6202
**ORCID: 0000-0001-5681-073X

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

مقدمه

یکی از علل پاتولوژیک مهم بیماری‌های قلبی و عروقی ایجاد لخته ناخواسته در اثر تجمع پلاکتی می‌باشد. طی فرآیند تشکیل لخته خون، ترومبین از پروترومبین ایجاد شده و مولکول حاصل با تأثیر بر پروتئین محلول در پلاسما به نام فیبرینوژن آن را به نحوی تغییر می‌دهد که به صورت یک شبکه نامحلول از رشته‌های فیبرین در می‌آید و پس از گیر افتادن گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها در آن شبکه، لخته ثابت یا ترومبوز تشکیل می‌گردد. پس از تشکیل لخته، جریان مداوم خون ممکن است آن را از محل اتصالش جدا نموده و همراه خون جریان پیدا کند. این قبیل لخته‌های آزاد در جریان خون آمبولی نامیده می‌شوند. از آنجایی که ترومبوز عامل ایجاد کننده بیماری‌های مهم تهدید کننده حیات مثل: آنفارکتوس میوکارد، سکته، ترومبوز وریدهای عمقی و آمبولی ریه می‌باشد، لذا تشخیص، تعیین محل و درمان به‌موقع آن از اهمیت به سزایی برخوردار است (۶-۱).

از بین اجزاء تشکیل دهنده ترومبوز، فیبرین بهترین هدف برای تصویربرداری و تشخیص می‌باشد. فیبرین از پلیمریزاسیون فیبرینوژن حاصل می‌شود، و به فراوانی در همه ترومبوزها موجود است. و در حداقل غلظت در گردش خون وجود دارد که برای تصویربرداری در مطالعات درون تنی in vivo عالی است. فیبرین در حالت‌های غیر پاتولوژیک یافت نمی‌شود. حضور فیبرین در همه ترومبوزها نمایانگر حساسیت و ویژگی بالا فیبرین به عنوان هدف می‌باشد. فیبرین همچنین به عنوان هدف برای عوامل آنتی ترومبوتیک قوی نیز مطرح می‌باشد. (۱۰-۷).

رسپتورهای سطح پلاکت‌های فعال شده و فیبرین بیشتر از سایر هدف‌ها در بررسی ترومبوز مطالعه شده‌اند. آنتی‌بادی‌های نشاندار و قطعات، نانو ذرات، پلاکت‌های نشاندار برای تصویربرداری از پلاکت و فیبرین تا به حال مورد بررسی قرار گرفتند. که به علت مشکلات نشاندارسازی، اندازه بزرگ، کلیرانس آهسته در خون و فارماکوکینتیک نامناسب عملاً در کلینیک بکار نمی‌روند. پپتید ها به علت اندازه کوچک‌تر، کلیرانس سریع‌تری داشته و در کبد و ریه برداشت کمتری دارند، سنتز آنها راحت‌تر و ارزان‌تر می‌باشد، روش‌های نشاندارسازی پپتیدها راحت‌تر بوده و در مجموع به علت فارماکوکینتیک مناسب برای تصویربرداری در پزشکی هسته‌ای مناسب‌تر می‌باشند (۱۳-۱۱).

بر اساس بازنگری منابع منتشر شده، در بین توالی‌های پپتیدی که بر علیه فیبرین تهیه شدند، پپتیدها بر پایه تری پپتید، گلایسین-پرولین-آرژنین (GPR) نتایج خوبی را نشان دادند (۱۴). در بررسی‌های بعدی، پنتا پپتید GPRPP با استفاده از ۴ آمینواسید GAGG با تکنسیوم نشاندار شد و برای جلوگیری از ممانعت فضائی، ۴ آمینوبوتیریک اسید در ساختار پپتید بکار رفت. این پپتید جدید که وزن مولکولی حدود ۸۵۰ دارد به نام TP-850 با سکانس (GPRPP-aba-GAGG) نامگذاری شد. و برای مطالعات برون تنی و درون تنی معرفی شد. نتایج نشان داد که TP850 علاوه بر اتصال به فیبرین باعث تجمع پلاکتی هم می‌شود که نمایانگر اختصاصی نبودن پپتید به فیبرین می‌باشد (۱۶-۱۵).

در این مطالعه به منظور تهیه پپتید که به طور اختصاصی و با تمایل بالا به فیبرین متصل شود، پنتا پپتید GPRPP که تمایل مناسبی را به فیبرین در ارزیابی‌های اولیه از خود نشان داده است، به عنوان ترکیب رهبر انتخاب شد و طراحی‌های جدید صورت گرفت.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

پپتیدها را می‌توان با استفاده از داکینگ الگوریتم طراحی کرد. دلیل اصلی برای استفاده از داکینگ، پیشگویی ترکیبات متصل شونده به گیرنده و نیز مشاهده ساختار هندسی سه بعدی کمپلکس فارماکوفور با جایگاه فعال گیرنده است که متعاقباً باعث کاهش هزینه‌های سنتز توالی‌های مختلف خواهد شد (۱۷). در طراحی پپتیدها پارامترهای متنوعی وجود دارد که باید در نظر گرفته شوند از جمله: طول توالی پپتید، نوع اسیدهای آمینه، ساختار ثانویه، حلالیت، نوع و میزان بار القایی در توالی و وجود گروه‌های غیرقطبی. سنتز دسته وسیعی از پپتیدها با روش فاز جامد و نشاندار شدن آنها با رادیونوکلیدهای پرکاربرد در پزشکی هسته‌ای، جایگاه ویژه‌ای را برای پپتیدهای نشاندار با مواد رادیواکتیو (رادیوپپتیدها) برای تشخیص و درمان بیماری‌ها به‌ویژه سرطان پیدا کرده است. با وجود انواع بسیاری از رادیونوکلیدها که تاکنون برای مصارف پزشکی و تهیه رادیوداروها معرفی شده‌اند، فلوئور-۱۸ (18F) و تکنسیوم-(۹۹mTc)m ۹۹ همچنان به دلیل خصوصیات مناسبی که دارند به عنوان رادیونوکلیدهای استاندارد به ترتیب جهت تهیه رادیوداروهای تشخیصی در تصویربرداری پت PET و اسپکت SPECT مطرح هستند.

دوربین‌های پت نسبت به اسپکت از حساسیت و رزولوشن بیشتری برخوردار هستند به همین دلیل نشاندارسازی با رادیونوکلیدهای پوزیترون دهنده از ارزش خاصی برخوردار می‌باشد. در بین این رادیونوکلیدها، فلوئور-۱۸ (18F) به دلیل ویژگی‌هایی نظیر: اکتیویته ویژه بالا، نیمه عمر مناسب، انرژی کم پوزیترون، برای نشاندارسازی پپتیدها مطلوب است. نشاندارسازی مستقیم پپتید با 18F به علت شرایط دشوار واکنش مثل: pH پایین، دمای بالا و نیاز به مقدار زیاد پپتید تقریباً غیرممکن است. از این رو نشاندارسازی غیرمستقیم از طریق ترکیبات واسطه (prosthetic group) توسعه یافته است. سنتز ترکیبات واسطه حامل18F بسیار پیچیده و پر هزینه است و نیازمند تکنولوژی‌های پیشرفته است. از نکات حائز اهمیت در این سنتزها رسیدن به حداقل زمان تولید است که به منظور رسیدن به این زمان حداقل باید سعی شود واکنش‌ها در یک مرحله صورت گیرد و امکان طراحی آن به صورت سنتز دستگاهی وجود داشته باشد. تاکنون تعدادی از ترکیبات واسطه حامل 18F، برای انواع واکنش‌های شیمیایی معرفی شده‌اند (۱۸).

تشکیل اکسیم بین یک گروه آلدهید یا کتون با یک ترکیب دارای گروه آمینواکسی به‌طور گسترده برای کونژوگه کردن بیوملکول‌ها استفاده می‌شود. از مزایای مهم این واکنش انتخابی بودن آن از نظر شیمیائی (chemoselective) است که می‌تواند در محلول آبی یا مائی انجام شود (۱۹). در واکنش تشکیل پیوند اکسیم سایر گروه‌های فعال موجود در ترکیب دست نخورده باقی می‌مانند و نیاز به مراحل قرار دادن گروه محافظ و برداشتن آن ندارند. مانند سایر واکنش‌های تشکیل ایمین، تشکیل پیوند اکسیم نیز برگشت‌پذیر است (۲۰ و ۲۱). به دلیل وجود اثر α بر روی گروه نیتروژن در گروه آمین اکسی تعادل واکنش در جهت تشکیل پیوند اکسیم است و در بسیاری از موارد واکنش فقط منجر به تولید یک محصول می‌شود (۲۲).

به علت در دسترس بودن ۲- فلوئور ۲- دزوکسی-D- گلوکز (18FDG) در اغلب مراکز پت، 18FDG انتخاب مناسبی برای ترکیبات واسطه حاوی فلوئور-۱۸ می‌باشد. بررسی‌ها نشان داده است که آمینواکسی یا هیدرازین در محلول آبی پیوند پایدار اکسیم یا هیدرازون با آلدهید ایجاد می‌کنند. هیدرازین نیکوتینیک اسید (HYNIC) و N- (۱-اتوکسی اتیدین) ۲-

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

آمینواکسی استیک اسید N- هیدروکسی سوکسینیک ایمید (Eei-NHS) برای ایجاد پیوند هیدرازون یا اکسیم در N- ترمینال پپتید بکار می‌روند. 18FDG به دو فرم خطی و حلقوی در محیط آبی وجود دارد. فرم خطی 18FDG ایجاد کننده گروه آلدهیدی برای تشکیل پیوند اکسیم یا هیدرازون با پپتیدهای حامل گروه آمینواکسی یا هیدرازین می‌باشد. این واکنش در طی یک مرحله از طریق تشکیل پیوند اکسیم یا هیدرازون با گروه آلدهیدی از شکل خطی 18FDG صورت گرفته و باعث فلورینه شدن پپتیدهای حاوی آمینواکسی یا هیدرازین می‌شود. (شکل ۱) (۲۶-۲۳). به علت شیمی اختصاصی این واکنش‌ها، از آن به طور گسترده برای اتصال پپتیدها، پروتئین‌ها و گروه‌های قندی و اسیدهای چرب به ترکیبات دارای گروه آمینواکسی یا هیدرازین استفاده می‌شود.

ووست (Wuest) و همکاران، پروتئین انکسین را با استفاده از ترکیبات واسطه بر پایه 18FDG در دمای ۱۰۰°C و با بازده ۶۹-۴۵ درصد نشاندار کردند (۲۷). حدود یک سال بعد، دکتر نام‌آوری و همکاران، از 18FDG برای نشاندارسازی پپتید RGD استفاده نموده و در شرایط اسیدی و حرارت ۱۰۰°C موفق به نشاندارسازی با بازده کلی ۲۷/۵ درصد شدند (۲۵).

در مطالعه‌ای دیگر، مشتقی دیگر از RGD حلقوی توسط 18FDG با بازده ۶۳ درصد نشاندار شد (۲۸). از آنجایی که در اغلب موارد 18FDG تهیه شده حاوی مقادیری از گلوکز است که می‌تواند در روند تشکیل پیوند اکسیم با 18FDG رقابت کرده و منجر به تشکیل محصول فرعی شود، لذا این واکنش جانبی سبب کاهش اکتیویته ویژه محصول می‌گردد (۲۸). در نتیجه باید به طریقی گلوکز از 18FDG جدا گردد. به منظور غلبه بر واکنش رقابت گلوکز با 18FDG، روش‌هایی پیشنهاد شد که با قرار دادن گروه‌های عاملی بر روی 18FDG سبب تمایز آن از گلوکز شده و واکنش رقابتی محدود می‌گردد ولی نتایج چندان قابل توجهی نداشتند (۲۷). روش‌های کروماتوگرافی که باعث جداسازی گلوکز از 18FDG می‌شود، موفقیت بیشتری داشته‌اند (۲۹).

در این مطالعه، پپتید GPRPILE حاوی گروه آمینو اکسی با استفاده از روش فاز جامد سنتز و سپس با 18FDG نشاندار و آزمایشات مربوط به تأئید ساختار و و پایداری بر روی آن انجام خواهد شد.

مواد و روش‌ها

اسید های آمینه و رزین ۲- کلرو تریتیل کلراید از شرکت Bachem، حلال‌ها از شرکت مرک و سیگما خریداری شدند. اتوکسی اتیدین آمینواکسی استیک اسید هیدروکسی سوکسین ایمید (Eei-Aoe-NHS) از شرکت IRIS Biotech GmbH از آلمان و 19FGD از شرکت ABX advanced Biochemical compounds از آلمان خریداری شدند. محلول 18FDG از مرکز پزشکی هسته‌ای فردوس- بیمارستان دکتر مسیح دانشوری تهیه گردید. عملیات داکینگ با استفاده از نرم‌افزار AutoDock ویرایش ۴/۱ و نرم‌افزار HEX به کمک الگوریتم ژنتیک لامارکین و به روش استاندارد لیگاند انعطاف‌پذیر-پروتئین ثابت صورت گرفت.

- سنتز پپتید Aoe-Gly-Pro-Arg-Pro-Ile-Leu-Glu

پپتید بر روی فاز جامد بر اساس روش استاندارد Fmoc که قبلاً گزارش شده است، سنتز شد (۳۰). به طور مختصر، پس از آماده‌سازی رزین تریتیل، اولین اسید آمینه Fmoc-Glu (otBu) به همراه N، N-دی ایزوپروپیل آمین (DIEA) به عنوان عامل مزدوج کننده

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

بر روی رزین اضافه شده و به مدت ۱ ساعت انکوبه گردید. پس از شستشو و کلاهک‌گذاری رزین، گروه محافظ اسید آمینه Fmoc توسط محلول ۲۵ درصد پیریدین در دی متیل فرمامید جدا می‌شود. دومین اسید آمینه در حلال دی کلرو متان و دی متیل فرمامید حل شده و به همراه DIEA و TBTU (بنزوتریازول تترامتیل اورانیوم تترافلوروبورات) به رزین اضافه می‌شود. مخلوط دو ساعت انکوبه شده و بقیه مراحل مانند اسیدآمینه اول صورت می‌گیرد. پس از اتمام آخرین اسید آمینه، گروه اکسیم با اضافه کردن Eei-Aoe-NHS تشکیل می‌گردد. پپتید سنتز شده توسط تری فلورواستیک اسید از رزین جدا می‌گردد. پپتید با استفاده از HPLC خالص‌سازی شد. ساختار پپتید سنتز شده توسط دستگاه LC-MS مورد بررسی قرار گرفت.

- نشاندار سازی پپتید با 19FDG

ابتدا ۲ میلی‌گرم از پپتید متصل به AOE در ۱۰۰ ماکرولیتر مخلوط ۵۰ درصد اتانول در سالین حل شد. سپس مقدار ۴ اکی‌والان از 19FDG (معادل ۲ میلی‌گرم) و ۵۰ ماکرولیتر سالین به ویال واکنش افزوده شد. pH واکنش با استفاده ازTFA، در دامنه ۲-۲، ۵ تنظیم و نهایتاً ظرف واکنش در دمای ۱۰۰°C به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شده و پس از سرد شدن عملیات خالص‌سازی صورت گرفت (۲۳ و ۲۸). جهت خالص‌سازی از کارتریج C18 که توسط ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲۰ میلی‌لیتر هوا فعال شده، استفاده شد. مخلوط واکنش از کارتریج عبور داده و سپس با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر شسته، تا مواد غیرپپتیدی مانند 19FDG غیرکونژوگه خارج شود و در پایان به منظور خروج کونژوگه پپتید- 19FDG مقدار ۲ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد از کارتریج عبور داده شد. برای تأیید کونژوگه تهیه شده از طیف LC-Mass استفاده شد.

- نشاندار سازی پپتید با 18FDG

مقادیری از پپتید متصل به Aoe بین ۰/۵-۱ میلی‌گرم در حداقل مقدار محلول ۵۰ درصد اتانول/ سالین حل گردید و سپس مقدار ۱ میلی‌کوری 18FDG به ویال واکنش افزوده شد. نهایتاً ظرف واکنش در دمای 100°C به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه و پس از سرد شدن عملیات خالص‌سازی با استفاده از کارتریج به روش ذکر شده در بالا انجام گرفت. برای به دست آوردن خلوص رادیوشیمیایی از سیستم TLC با فاز ساکن سیلیکاژل و استونیتریل ۹۵ درصد به عنوان فاز متحرک استفاده شد. در این سیستم 18FDG غیرکونژوگه در۰/۵ =Rf و پپتید نشاندار در۰ =Rf ظاهر گردید (۲۶، ۳۱ و ۳۲).

-تعیین نسبت حلالیت چربی به آب (LogP)

مقدار ۵۰ میکروکوری (µCi) از پپتید نشاندارشده درون میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری ریخته و به آن ۰/۵ میلی‌لیتر n-اکتانول (فاز آلی) و ۰/۵ میلی‌لیتر نرمال سالین (فاز آبی) اضافه شد و به مدت ۴ دقیقه با استفاده از ورتکس مخلوط شده تا رادیوپپتید بین دو فاز آبی و آلی توزیع گردد. سپس مقدار ۵۰ میکرولیتر از فازهای آبی و آلی برداشته و سپس میکروتیوب در g ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و میزان اکتیویته آنها توسط شمارنده گاما اندازه‌گیری شد. این کار برای هر یک از نمونه‌ها سه مرتبه تکرار گردید. با اندازه‌گیری میانگین اکتیویته فاز آلی و آبی مقدار log P تعیین شد.

-تعیین پایداری پپتید در پلاسمای انسانی و نرمال سالین

به منظور ارزیابی پایداری پپتید در نرمال سالین و پلاسمای انسانی، ۵۰ میکرولیتر از پپتید به ۴۵۰ میکرولیتر نرمال سالین و پلاسمای انسانی اضافه و نمونه‌ها به مدت

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

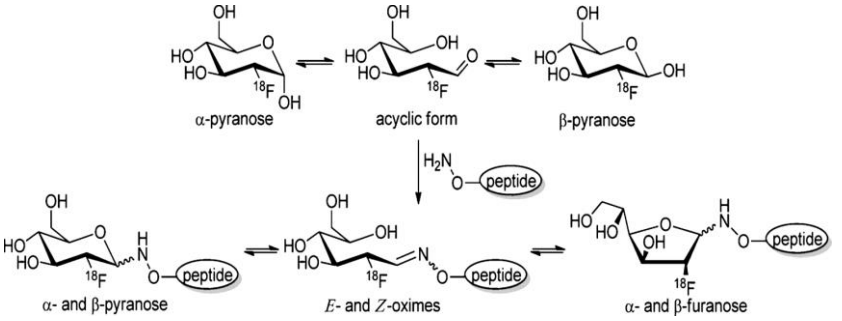
۱، ۲، ۴ و ۲۴ ساعت در دمای اتاق برای نرمال سالین و ۳۷°C برای پلاسما انکوبه شدند. پس از گذشت زمان انکوباسیون، ۵۰۰ میکرولیتر استونیتریل سرد به منظور رسوب پروتئین‌های پلاسما به هر یک از نمونه‌ها اضافه و سپس نمونه‌ها با دور ۱۰۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سوپرناتنت توسط LC-Mass بررسی گردید.

- تعیین پایداری پپتید نشاندار در پلاسمای انسانی و نرمال سالین

به منظور ارزیابی پایداری پپتید نشاندار در نرمال سالین و پلاسمای انسانی، ۵۰ میکرولیتر از رادیوپپتید به ۴۵۰ میکرولیتر نرمال سالین و پلاسمای انسانی اضافه و نمونه‌ها به مدت ۱۰، ۳۰ دقیقه و ۱، و ۲ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه شدند. پایداری پپتید نشاندار شده با 18FDG به علت نیمه عمر کوتاه فلوئور تا ۲ ساعت بررسی گردید. پس از گذشت زمان انکوباسیون، ۵۰۰ میکرولیتر استونیتریل سرد به منظور رسوب پروتئین‌های پلاسما به هر یک از نمونه‌ها اضافه و سپس نمونه‌ها با دور ۱۰۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و میزان اکتیویته در رسوب و سوپرناتنت توسط شمارنده گاما تعیین گردید. نسبت میزان اکتیویته سوپرناتنت به اکتیویته رسوب تعیین کننده مقدار پپتید پایدار (رادیوپپتید موجود در سوپرناتنت) به پپتید ناپایدار (رادیوپپتید حبس شده در رسوب) است. سوپرناتانت توسط TLC هم مورد ارزیابی قرار گرفت.

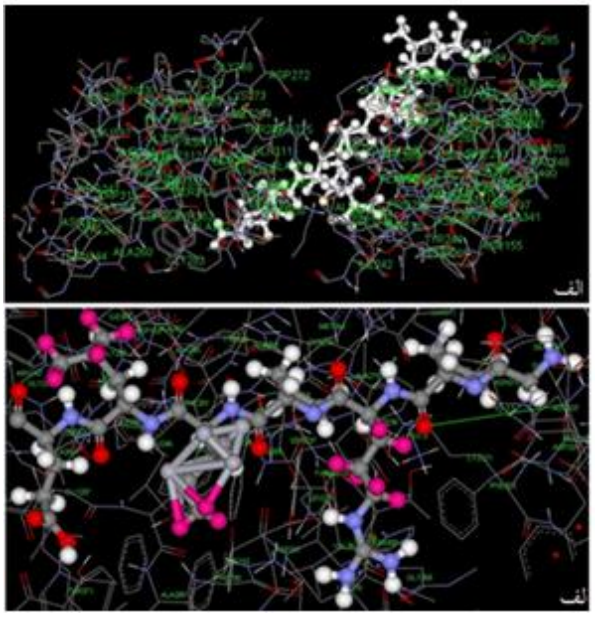
یافته‌ها

بر اساس نتایج داکینگ توالی‌های انتخاب شده و چگونگی اتصال آنها در جایگاه فعال فیبرین، توالی‌های جدید طراحی و مطالعات داکینگ برای آنها صورت گرفت. نتیجه داکینگ پپتید گلایسین-پرولین-آرژنین-پرولین-ایزولوسین-لوسین-گلوتامات (GPRPILE) در جایگاه فعال فیبرین نشان داد که N-ترمینال گلایسین پپتید با لیزین ۳۲۱ از جایگاه فعال فیبرین، آرژنین با آسپارنیک اسید ۲۷۲ و آسپاراژین ۳۰۸، ایزولوسین با آسپارنیک اسید ۲۸۸ و فنیل‌آلانین ۲۸۱، پرولین با آلانین ۲۶۳ و لوسین با گلایسین ۲۸۳ دارای برهمکنش می‌باشند (شکل ۲). ساختار سه بعدی کریستالوگرافی شده فیبرین به صورت فایل pdb از سایت اینترنتی PDB با کد (1FZC) گرفته شد (شکل ۳). برای معتبرسازی نتایج داکینگ از نرم‌افزار PyMol استفاده شد. عملیات داکینگ با استفاده از نرم‌افزار AutoDock ۴/۱ و نرم‌افزار HEX به کمک الگوریتم ژنتیک لامارکین و به روش استاندارد لیگاند انعطاف پذیر- پروتئین ثابت صورت گرفت. پس از به دست آوردن نتایج داکینگ، کنفورماسیون‌های داک شده جهت مقایسه از نظر قرارگیری در جایگاه فعال فیبرین بر روی هم قرار گرفته شد، که نتایج آن مؤید نزدیکی مطلوب کنفورماسیون‌ها به هم بود.

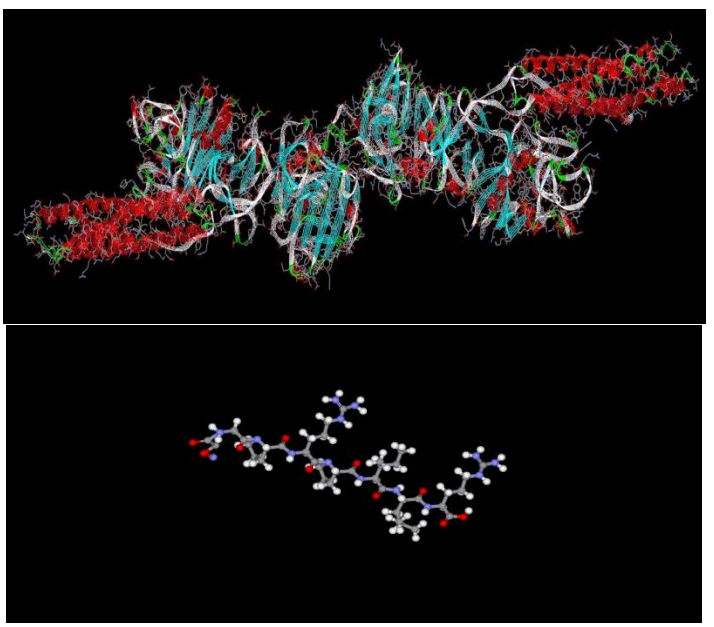


شکل ۱) نشاندارسازی پپتید با استفاده از ^{18}FDG

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]



شکل ۲) جای‌گیری پپتید GPRPILE در جایگاه فعال فیبرین



شکل ۳) ساختار سه‌بعدی کریستالوگرافی شده فیبرین (بالا)، ساختار سه بعدی پپتید GPRPILE با استفاده از نرم‌افزار Marvin Chem (پائین)

سنتز در فاز جامد با استراتژی Fmoc بر روی بستر ۲-کلرو تریتیل کلراید انجام شد. به منظور ایجاد گروه آمینواکسی در پپتید از گروه پروستتیک Eei-Aoe-NHS استفاده شد. این گروه با داشتن اندازه کوچک‌تر و اضافه کردن تعداد اتم‌های کمتر به انتهای پپتید حداقل تأثیر را بر روی خصوصیات پپتید می‌گذارد (۲۳، ۳۳ و ۳۴).

در مطالعه حاضر توالی پپتیدی طراحی شده با بازده مناسب با روش Fmoc سنتز و جهت تأیید ساختار از LC-Mass (ESI) استفاده شد (جدول ۱).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

جدول ۱) خصوصیات پپتید **Aoe-GPRPILE**، با فرمول مولکولی $C_{37}H_{63}N_{11}O_{12}$ تعیین شده توسط **LC-MS**

کروماتوگرافی با کارکرد عالی-فاز معکوس		طیف جرمی	
در صد خلوص	زمان نگهدارنده (دقیقه)	جرم مشاهده شده (گرم/مول)	جرم محاسبه شده (گرم/مول)
>۹۹	۰/۲۷۳	۸۵۴ $[M+H]^{+3}$	۸۵۳/۵

کروماتوگرام حاصله از کروماتوگرافی آنالیتیکال با استفاده از سیستم گرادیانی حلال TFA ۰/۱ درصد در H2O (حلال A) و استونیتریل (حلال B) حاصل شده است (شکل ۴).

جرم محاسبه شده: $C_{37}H_{63}N_{11}O_{12}$=853.5.

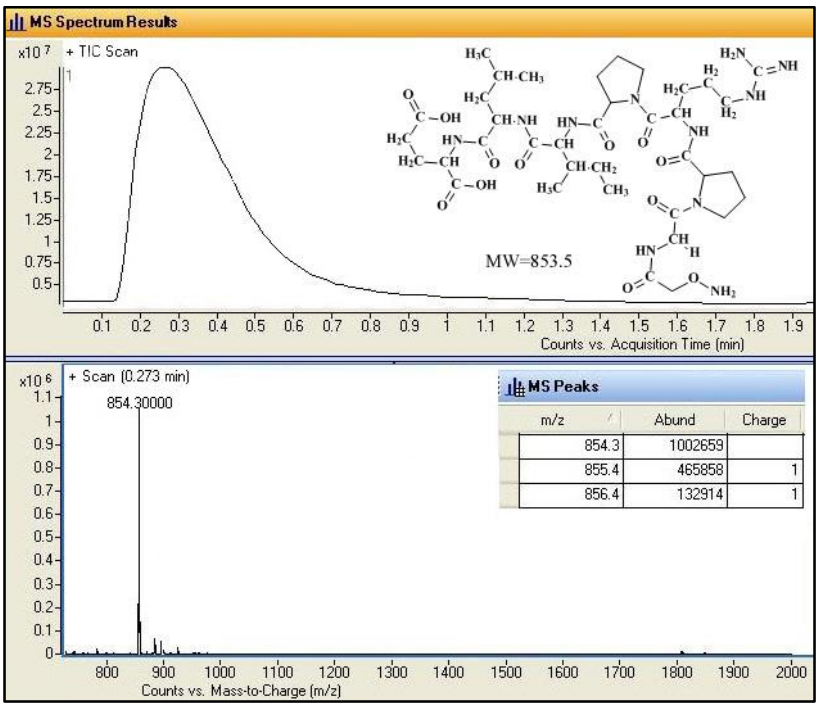
جرم یافت شده: $m/z=854.3\ [M+H]^{+}$

به منظور بهبود روند نشاندار سازی پپتید حاوی گروه آمینو اکسی با 18FDG عوامل مختلفی به شرح زیر در نظر گرفته شد: غلظت پپتید (mg ۱-۰/۵)، pH (اسیدی، بازی، و خنثی)، زمان انکوباسیون (۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه)، دما و مقدار رادیواکتیویته. نتایج نشان داد که بهترین بازده نشاندارسازی در شرایط اسیدی‌تر حاصل می‌شود. شرایط بهینه واکنش عبارت است از: ۲۰۰ میکروگرم پپتید، pH=۵، دما ۹۰°C، زمان واکنش ۳۰ دقیقه و مقدار 18FDG برابر ۱ mCi. پپتید در شرایط بهینه نشاندار گردید. برای جدا کردن و خالص‌سازی کونژوگه نهایی نشاندار از کارتریج C18 استفاده شد. در مرحله بعد رادیوپپتید را به دستگاه HPLC تزریق و شستشو با حلال آب:استونیتریل (با نسبت ۲۰:۸۰) انجام شد. سپس حاصل شستشو در هر دقیقه جمع‌آوری و مقدار اکتیویته آنها توسط دستگاه شمارنده گاما تعیین گردید. جمع‌آوری حاصل شستشو به مدت ۳۰ دقیقه به طول می‌انجامد. رادیوکروماتوگرام پپتید نشاندار با استفاده از Radio-TLC بررسی و خلوص رادیوشیمیائی تعیین گردید. شایان ذکر است که 18FDG آزاد در رادیوکروماتوگرام در حدود Rf=۰ و رادیوپپتید در حدود Rf=۰/۵ ظاهر می‌شود (شکل ۵). خلوص رادیوشیمیائی ۱±۹۵ درصد و اکتیویته ویژه Ci/mmole ۴/۳ به‌دست آمد. مقدار log P=-۱/۵ حاصل شد که نمایانگر هیدروفیل بودن ترکیب است. بررسی پایداری نشان داد که پپتید تا ۲۴ ساعت در پلاسما و بافر پایدار است. ۹۵ درصد از پپتید نشاندار شده با 18FDG بعد از ۲ ساعت در پلاسما انسانی پایدار می‌باشد.

بحث

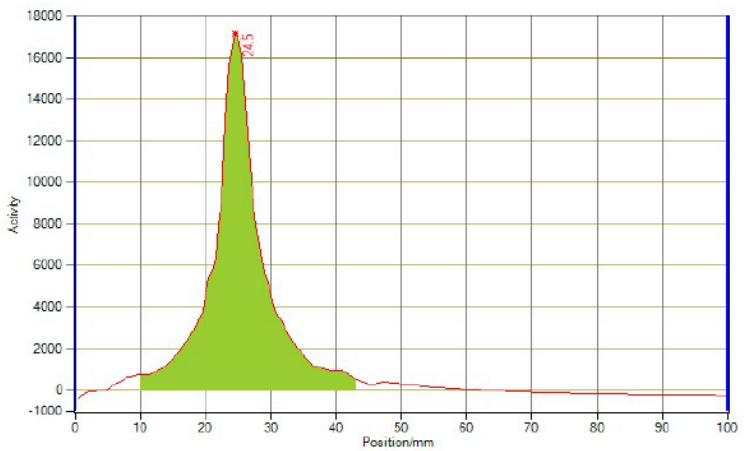
پپتیدها دارای چندین مزیت مشخص نسبت به پروتئین‌ها و آنتی‌بادی‌ها هستند. این مزایا عبارتند از: ۱) اندازه کوچک ۲) تهیه آسان ۳) نشاندارسازی آسان ۴) تکنیک‌های نشاندارسازی متنوع ۵) مقاومت در برابر شرایط شیمیایی و نشاندارسازی ۶) امکان اتصال شلاتورها با دو گروه فعال از سر C و N ترمینال پپتید ۷) قابلیت تغییر ماندگاری و دفع ۸) پاکسازی سریع از خون و بافت غیر هدف ۹) نسبت بالای تومور به زمینه ۱۰) نفوذ بالا به بافت ۱۱) سمیت پایین ۱۲) تحریک پایین سیستم ایمنی و ۱۳) تمایل بالا و اختصاصی بودن (۳۸-۳۵).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]



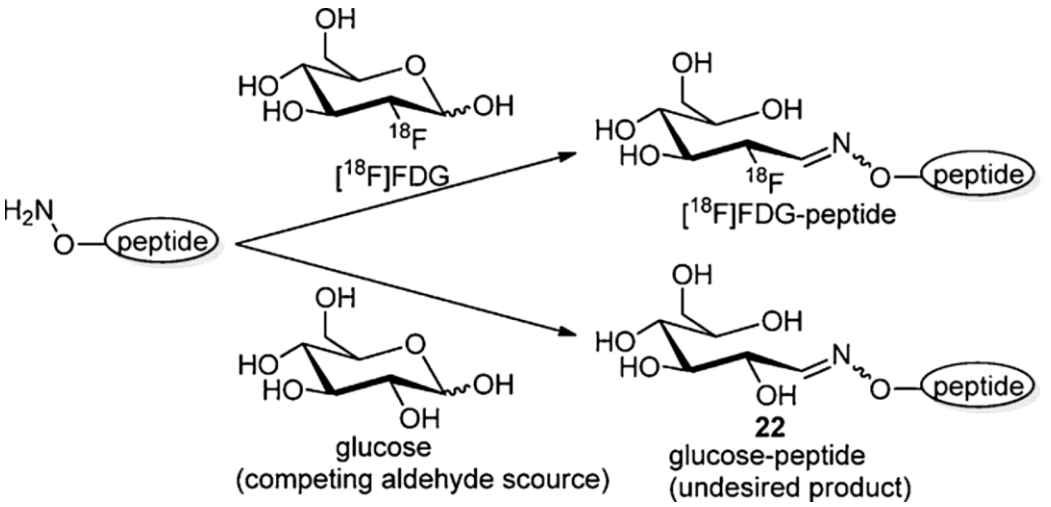
شکل ۴) طیف جرمی AOE- GPRPILE

Identifier	Area	% Peaks	Max. mm	Start mm	End mm	Maximum	% Total	Rf	Centroid mm
Peak 3	143255.80	100.00	24.5	10	43	17176.99	98.72	0.25	25.01



شکل ۵) رادیوکروماتوگرام به دست آمده از پپتید توسط TLC اسکنر. ۰٫۲ میلی‌گرم پپتید، ۱ میلی‌کوری 18FDG، دمای ۹۰°C، pH=۵، قند <۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌مول

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]



شکل ۶) رقابت گلوکز با [18F]FDG برای نشاندارسازی پپتیدها

رادیوپپتید TP850 با سکانس (GPRPP-aba-GAGG) از طریق ۴ اسید آمینه انتهائی GAGG با تکنسیوم-۹۹m نشاندار می‌شود. ۴-آمینو بوتیریک اسید (aba) برای کاهش ممانعت فضائی در سکانس اضافه شده است. میزان اتصال و تمایل رادیوپپتید فوق به فیبرین انسانی به ترتیب ۴۶ درصد و ۸ نانو مولار گزارش شده است. رادیوپپتید از تجمع پلاکتی هم جلوگیری می‌کند. که این نشان از عدم اختصاصیت برای فیبرین دارد (۱۶). به منظور تهیه پپتیدی که به طور اختصاصی و با تمایل بالا به فیبرین متصل شود، پنتا پپتید GPRPP که تمایل مناسبی را به فیبرین در ارزیابی‌های اولیه از خود نشان داده است، به عنوان ترکیب رهبر انتخاب شد و طراحی‌های جدید بر پایه سکانس GPR به عنوان عامل اصلی اتصال به فیبرین در نظر گرفته شد. بر روی سکانس GPR آمینواسیدهای مختلف قرار داده شد و توالی‌های حاصل در مطالعات داکینگ بررسی شدند.

هر چه میزان انرژی کل (E Total) منفی‌تر، تمایل لیگاند پپتیدی به گیرنده فیبرین بیشتر می‌باشد. توالی پپتید GPRPILE با E Total-۰/۰۱، از بین توالی‌ها انتخاب گردید. به منظور نشاندارسازی پپتید با فلوئور-۱۸ و تصویربرداری با دوربین‌های پت، آمینواکسی به انتهای پپتید اضافه شد و نشاندارسازی با 18FDG صورت گرفت.

به علت نقش و اهمیت رادیوداروهای پپتیدی در پزشکی هسته‌ای، مطالعات زیادی در جهت یافتن روش‌های نشاندارسازی سریع، راحت و کارآ برای پپتیدها در جریان می‌باشد. در بین رادیونوکلیدها، تکنسیوم-۹۹m در سیستم اسپکت و فلوئور-۱۸ در سیستم پت، در دسترس‌ترین رادیونوکلیدها در مراکز پزشکی هسته‌ای می‌باشند. نشاندارسازی پپتیدها با فلوئور مشکل‌تر از تکنسیوم می‌باشد. تعدادی ترکیبات واسطه (prosthetic groups) برای نشاندارسازی با فلوئور معرفی شده‌اند. ولی هنوز ترکیبی که از نظر کلینیکی مناسب باشد برای فلوریناسیون پپتیدها توسط اداره غذا و دارو یا FDA تصویب نشده است. 18FDG یک رادیودارو است که توسط FDA برای مصرف در انکولوژی، کاردیولوژی و نورولوژی به تصویب رسیده است. 18FDG یک قند است که در محلول مائی به واسطه موتاروتاسیون (mutarotation) به شکل

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

حلقوی و خطی موجود می‌باشد. در شکل خطی آلدهید قند با گروه آمینو اکسی واکنش داده و پیوند اکسیم حاصل می‌شود. مقدار شکل خطی 18FDG با افزایش حرارت و در ۱۰۰°C افزایش می‌یابد. واکنش تشکیل اکسیم روش بسیار مناسبی برای نشاندارسازی پپتیدها با ترکیبات واسطه حامل فلوئور-۱۸ است زیرا تمامی شرایط لازم برای یک واکنش نشاندارسازی برای 18F مانند تک مرحله‌ای بودن، chemoselectivity بودن و قابلیت تبدیل برای انجام به روش اتوماتیک (دستگاهی) را دارا می‌باشد. بنابراین چندین ترکیب با قابلیت تشکیل پیوند اکسیم برای نشاندارسازی پپتیدها معرفی شده‌اند (۱۸).

در مطالعه حاضر، برای سنتز پپتید طراحی شده، از بین دو استراتژی متفاوت سنتز در فاز جامد (BOC و Fmoc) از استراتژی Fmoc به دلایلی چون: پایداری در برابر اسید که در صورت جدا کردن پپتید از سطح رزین گروه پایدار می‌ماند. وجود جذب UV بالا که امکان ردیابی واکنش جدا شدن گروه محافظت کننده از سطح پپتید را فراهم می‌کند و امکان تهیه آسان اسیدهای آمینه محافظت شده با گروه Fmoc استفاده شد (۳۳). پپتید با روش Fmoc سنتز شد و قبل از جداسازی از رزین گروه آمینو اکسی بر روی آن قرار گرفت. نشاندارسازی با استفاده از 18FDG و واکنش تشکیل اکسیم صورت گرفت. به منظور ایجاد شرایط بهینه و بالاترین درصد نشاندارسازی عوامل مختلفی نظیر: مقدار پپتید، مقدار 18FDG، مقدار قند همراه در نمونه 18FDG، دما، زمان، حجم و pH مورد بررسی قرار گرفت. خلوص رادیو شیمیایی پپتید نشاندار با استفاده از TLC تعیین گردید.

18FDG تولید شده به‌صورت معمول حاوی مقادیری از گلوکز است که در روند تولید ایجاد می‌شود. گلوکز تشکیل شده می‌تواند با تشکیل پیوند اکسیم در اتصال به پپتید با 18FDG رقابت کرده و منجر به تشکیل محصول فرعی شود که سبب کاهش اکتیویته ویژه رادیوپپتید و کاهش خلوص رادیوشیمیائی می‌شود (شکل ۶) (۳۴). در نتیجه باید گلوکز از 18FDG جدا شود. جداسازی با استفاده از HPLC صورت می‌گیرد که با توجه به نیمه عمر کوتاه فلوئور-۱۸ مناسب نمی‌باشد (۲۸). با افزایش بازده تولید 18FDG مقدار گلوکز کاهش می‌یابد و فعالیت ویژه پپتید نشاندار افزایش می‌یابد. در صورتی که در روند خالص‌سازی 18FDG که در ماژول تولید صورت می‌گیرد از ستون کروماتوگرافی مناسب استفاده شود، گلوکز از 18FDG جدا خواهد شد. در حال حاضر این امکان در مازول‌های تولید 18FDG وجود ندارد. در این تحقیق نشاندارسازی پپتد با 18FDG در روزهای مختلف تولید تکرار شد. در روزهای مختلف مقدار گلوکز موجود در محلول 18FDG توسط HPLC اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در زمانی که مقدار گلوکز کمتر است، بازده نشاندارسازی و خلوص رادیوشیمیائی پپتید بیشتر بوده و فعالیت ویژه نیز افزایش می‌یابد. با توجه به مزایای استفاده از 18FDG برای نشاندارسازی پپتید (بهبود خصوصیات فارماکوکینتیک پپتید، در دسترس بودن 18FDG، تک مرحله‌ای بودن واکنش، امکان واکنش فضاگزین و کونژوگه کردن 18FDG در یک محل مشخص از پپتید)، در صورت جداسازی گلوکز از 18FDG در ماژول تولید، نشاندارسازی راحت، سریع و با بازده بالا صورت می‌گیرد.

نتیجه‌گیری

در حال حاضر برای تصویر برداری از ترومبوز و به طور اختصاصی فیبرین، رادیوداروی مناسب در دسترس

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

نمی‌باشد. به منظور تهیه رادیوداروی مناسب برای تصویربرداری از فیبرین، پپتید GPRPILE حاوی گروه آمینواکسی برای نشاندارسازی با 18FDG سنتز شد. به دلیل در دسترس بودن 18FDG در تمامی مراکز پت، 18FDG از پتانسیل بالائی در نشاندارسازی پپتیدها با روش غیرمستقیم برخوردار می‌باشد. انتظار می‌رود که پپتید فوق در مطالعات برون تنی و درون تنی تمایل اختصاصی و بالائی را به فیبرین نشان داده و بر روی تجمع پلاکتی هم اثری نداشته باشد. مطالعات بیشتر در این زمینه ادامه دارد.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Institute of Medicine Committee on Preventing the Global Epidemic of Cardiovascular Disease: Meeting the Challenges in Developing C. The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. In: Fuster V, Kelly BB, editors. Promoting Cardiovascular Health in the Developing World: A Critical Challenge to Achieve Global Health. First ed. Washington (DC): National Academies Press (US), 2010, 1-482.
2.Friedman M, Rosenman RH. Association of specific overt behavior pattern with blood and cardiovascular findings; blood cholesterol level, blood clotting time, incidence of arcus senilis, and clinical coronary artery disease. J Am Med Assoc 1959; 169(12): 1286-96.
3.Nichols M, Townsend N, Scarborough P, et al. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. European Heart Journal 2014; 35(42): 2950-9.
4.Hatmi ZN, Tahvildari S, Gafarzadeh Motlag A, et al. Prevalence of coronary artery disease risk factors in Iran: a population based survey .BMC Cardiovascular Disorders 2007; 7:32.
5.Das K, Mandal GP, Dutta AK, et al. Awareness of warning symptoms and risk factors of stroke in the general population and in survivors of stroke. J Neurosci 2007; 14(1): 12–6.
6.Hara T, Bhayana B, Thompson B, et al. Molecular imaging of fibrin deposition in deep vein thrombosis using a new fibrin-targeted near-infrared fluorescence (NIRF) imaging strategy. Jacc. Cardiovascular Imaging 2012; 5(6): 607-15.
7.Kanavos P. The rising burden of cancer in the developing world. Ann Oncol 2006; 17 Suppl 8: viii15-viii23.
8.Aruva MR, Daviau J, Sharma SS, Thakur ML. Imaging thromboembolism with fibrin-avid 99mTc-peptide: evaluation in swine. Journal of Nuclear Medicine 2006; 47(1):155-62.
9.Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, et al. Clotting mechanisms and cancer: implications in thrombus formation and tumor progression. Clinical advances in hematology & oncology: H&O 2003; 1(11): 673-8.
10.Starmans LWE, Van Duijnhoven SMJ, Rossin R, et al. Evaluation of 111In-labeled EPep and FibPep as tracers for fibrin SPECT imaging. Molecular Pharmaceutics 2013; 10(11): 4309-21.
11.Bosnjakovic VB, Jankovic BD, Horvat J,et al. Radiolabelled anti-human fibrin antibody: a new thrombus-detecting agent. The Lancet 1977; 309(8009): 452-4.
12.Thundimadathil J. Cancer treatment using peptides: current therapies and future prospects. J Amino Acids 2012; 2012: 1-14. doi: 10.1155/2012/967347
13.Schibli R, Schubiger PA. Current use and future potential of organometallic radiopharmaceuticals. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 2002; 29(11):1529–42.
14.Rosebrough SF, Kudryk B, Grossman ZD, et al. Radioimmunoimaging of venous thrombi using iodine-131 monoclonal antibody. Radiology 1985; 156(2): 515-517.
15.Scott F. Rosebrough JGM, Zachary D. Grossman and Lisa A. Schemancik. Immunoreactivity of 111In and 1311 fibrin-specific monoclonal antibody used for thrombus imaging. Journal of Immunological Methods 1989; 116(1): 123-9.
16.Thakur ML, Pallela VR, Consigny PM, et al. Imaging vascular thrombosis with 99mTc-labeled fibrin alpha-chain peptide. J Nucl Med 2000; 41(1): 161–8.
17.David C. Young. Computational Drug Design. A guide for computational and medicinal

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

chemists. John Wiley and sons. 2009. ISBN: 978-0-470-45184-7
18.Meszaros LK, Dose A, Biagini S.C.G, Blower P.J. *Hydrazinonicotinic acid (HYNIC) - Coordination chemistry and applications in radiopharmaceutical chemistry.* Inorganica Chimica Acta 2010; 363 (6): 1059-69.
19.Dirksen A, Hackeng TM, Dawson PE. Nucleophilic Catalysis of Oxime Ligation. Angew Chem Int. 2006; 20;45(45):7581-4.
20.Kalinowski HO, Kessler H. Fast isomerizations about double bonds. In topics in stereochemistry. John Wiley&Sons, Inc. 2007; 295-383. DOI: 10.1002/9780470147160
21.Eugene G. Sander, William P. Jencks. Equilibria for additions to the carbonyl group. J. Am. Chem. Soc 1968; 90 (22): 6154–62.
22.Eugene H. Cordes, William P. Jencks. Nucleophilic Catalysis of Semicarbazone Formation by Anilines. J. Am. Chem. Soc 1962; 84(5): 826–31.
23.Duléry V, Renaudet O, Dumy P. Ethoxyethylidene protecting group prevents N-overacylation in aminooxy peptide synthesis. Tetrahedron 2007; 63(40): 11952-58.
24.Glaser M, Morrison M, Solbakken M, et al. Radiosynthesis and biodistribution of cyclic RGD peptides conjugated with novel [18F]fluorinated aldehyde-containing prosthetic groups. Bioconjugate chemistry 2008; 19(4):951-57.
25.Namavari M, Cheng Z, Zhang R, et al. A novel method for direct site specific radiolabeling of peptides using 18FDG. Bioconjugate Chemistry 2009; 20(3): 432-6.
26.Khoshbakht S, Kobarfard F, Beiki D, et al. HYNIC a bifunctional prosthetic group for the labeling of peptides with 99mTc and 18FDG. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry 2015; 307(2): 1125-34.
27.Wuest F1, Berndt M, Bergmann R, et al. Synthesis and application of [18F]FDG-maleimidehexyloxime ([18F]FDG-MHO): a [18F]FDG-based prosthetic group for the chemoselective 18F-labeling of peptides and proteins.bioconjugate chemistry 2008; 19(6):1202-10.
28.Hultsch C, Schottelius M, Auernheimer J, et al. (18)F-Fluoroglucosylation of peptides, exemplified on cyclo(RGDfK).Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2009; 36(9): 1469-74.
29.Bruus-Jensen K, Poethko T, Schottelius M, et al. Chemoselective hydrazone formation between HYNIC-functionalized peptides and (18)F-fluorinated aldehydes. Nuc Med Bio. 2006; 33(2):173-83.
30.Rezaeianpour S, Hajiagha Bozorgi A, Moghimi A, et al. Synthesis and biological evaluation of cyclic [99mTc]-HYNIC-CGPRPPC as a fibrin-binding peptide for molecular imaging of thrombosis and its comparison with [99mTc]-HYNIC-GPRPP. Molecular Imaging and Biology 2017; 19(2):256-64.
31.Khoshbakht S, Beiki D, Geramifar P, et al. 18FDG-labeled LIKKPF: a PET tracer for apoptosis imaging. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry 2016; 310(1): 413-21.
32.Khoshbakht S, Beiki D, Geramifar P, et al. Synthesis, radiolabeling, and biological evaluation of Peptide LIKKPF functionalized with HYNIC as apoptosis imaging agent. Iran J Pharm Res IJPR. 2016; 15(2): 415-24.
33.Ben M. Dunn. Peptide Chemistry and Drug Design. John Wiley & Sons Inc .2015; 11-104. ISBN: 978-1-118-99641-6
34.DEAN PM. Molecular Similarity in Drug Design. Netherlands: Springer. 1995; 258-294. ISBN 978-94-011-1350-2
35.Pickett SD, Mason JS, McLay IM. Diversity Profiling and Design Using 3D Pharmacophores: Pharmacophore-Derived Queries (PDQ). Journal of Chemical Information and Computer Sciences. 1996; 36(6):1214-23.
36.Carpino LA, Han GY. 9-Fluorenylmethoxycarbonyl function, a new base-sensitive amino-protecting group. Journal of the American Chemical Society. 1970; 92(19):5748-9.
37.McGregor MJ, Muskal SM. Pharmacophore Fingerprinting. Application to QSAR and Focused Library Design. *J. Chem. Inf. Comput. Sci 1999;* 39(3): 569–74.
38.Starmans LW, Van Duijnhoven SM, Rossin R, et al. SPECT imaging of fibrin using fibrin-binding peptides. Contrast media & molecular imaging 2013; 8(3):229-37.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]

Original Article

Design, Synthesis and Radiolabeling of Peptide GPRPILE with ^{18}FDG as Fibrin Imaging Agent for Thrombosis Detection

S. Rezaeianpour (PhD)[1], M. Mosayebnia (PhD)[2], A. Hajiagha Bozorgi (PhD)[3], A. Moghimi (PhD)[1], S. Balalaie (PhD)[4], S. Shahhosseini (PhD)[5**]*

[1] Department of chemistry, North Tehran Branch Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Department of Radiopharmacy, School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] School of Pharmacy, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
[4] Peptide Chemistry Research Center, K.N. Toosi University of Technology
[5] Department of Pharmaceutical Chemistry and Radiopharmacy, School of Pharmacy, Protein Technology Research Center, Shahid Behesti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received 2 Nov, 2017 Accepted 22 Jan, 2018)

Abstract

Background: The radionuclide of choice for routine clinical PET imaging is 18-F. As direct fluorination of peptides with 18-F is not possible, indirect methods using fluorinated prosthetic groups have been developed. Due to the availability of ^{18}FDG in most PET centers, there is potential for ^{18}FDG as a fluorinated prosthetic group. In this study, the linear peptide GPRPILE with an aminooxy group was designed, synthesized and radiolabeled with ^{18}FDG as fibrin imaging agent.

Material and Methods: Docking studies were conducted done using AutoDock 4.1 and HEX software programs. Aoe-GPRPILE peptide was designed, synthesized through Fmoc method and radiolabeled with ^{18}FDG. The radiochemical purity, stability of radiolabeled and cold peptide in PBS and human plasma was determined using chromatographic methods. The solubility ratio of the radiolabeled peptide in lipid to water (LogP) was determined.

Results: Docking and pharmacophore studies using HEX software revealed high affinity of designed peptide to fibrin (E Total=-0.01). The identity and structure of peptide were determined by LC-Mass. Peptide was stable over 24 hr in human plasma and PBS buffer. The optimum conditions of radiolabeling were 0.2 mg peptide, 1 mCi ^{18}FDG, 90°C for 30 min, pH=5. The radiochemical purity was over 95%. The stability of radiolabeled peptide in human plasma for 2 hr was over 95%. The partition coefficient (LogP) was 1.5.

Conclusion: ^{18}FDG has a high potential to be used as a prosthetic group for radiolabeling of peptides with 18-F. In this study, peptide Aoe-GPRPILE with aminooxy was synthesized and labeled with ^{18}FDG with high yield and radiochemical purity. Aminooxy is conjugated to peptide sequence as a prosthetic group in the last step with minimal effect on peptide properties and selectively forms stable oxime bond with the aldehyde group of ^{18}FDG.

Key words: Thrombosis, Radiolabeling with ^{18}FDG, Peptide, fibrin

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Rezaeianpour S, Mosayebnia M, Hajiagha Bozorgi A, Moghimi A, Balalaie S, Shahhosseini S. Design, Synthesis and Radiolabeling of Peptide GPRPILE with 18FDG as Fibrin Imaging Agent for Thrombosis Detection. Iran South Med J 2018; 21(3): 228-241

Copyright © 2018 Rezaeianpour, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

***Address for correspondence:* Department of Pharmaceutical Chemistry and Radiopharmacy, School of Pharmacy, Shahid Behesti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: s_shahoseini@sbmu.ac.ir
*ORCID: 0000-0002-0451-6202
**ORCID: 0000-0001-5681-073X

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-07]