

ELABORACIÓN DE UN RADIOFÁRMACO (PARTE II): FORMULACIÓN, MARCACIÓN Y DISTRIBUCIÓN BIOLÓGICA DEL EC

José López G.*, Ana Robles N.** y Scila Reátegui S.*

* Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Química e Ingeniería Química
Ciudad Universitaria, Av. Venezuela s/n, Lima 1 - Perú.

** Instituto Peruano de Energía Nuclear – IPEN. Planta de Producción de Radioisótopos
Central Nuclear RACSO – Huarangal, Lima 22 - Perú.

Abstract: In Radiopharmacy the use of complexes as radiopharmaceutical requires that the procedure of labelling (complexing) achieves a radiochemical purity of the complex ligand-Tc 99m greater than 98%. A study to find the chemical and physical parameters which allows the complexing of the EC ligand with Tc 99m and the biological distribution is presented.

Key words: Radiopharmaceutical, formulation, labelling, biotracers, technetium 99m.

Resumen: En radiofarmacia, el uso de un complejo como radiofármaco requiere que el procedimiento de marcación (complejamiento) logre una pureza radioquímica del complejo Ligando-Tc 99m mayor al 98%. Se presenta un estudio para encontrar los parámetros químicos y físicos óptimos que permitan el complejamiento del ligando EC con el Tc 99m y luego se evalúa la distribución biológica del complejo obtenido en ratones de laboratorio.

Palabras clave: radiofármaco, formulación, marcación, biotrazadores, Tecnecio 99m

RADIOISÓTOPOS EN MEDICINA

La aplicación de la energía nuclear en medicina se debe a las diversas propiedades de los tipos de energías emitidas por los radioisótopos. Estas propiedades no los hacen químicamente diferentes de los isótopos estables del mismo elemento y, por lo tanto, los sistemas biológicos son incapaces de establecer diferencias entre los diversos isótopos de un elemento, y por esta razón, siguen las mismas rutas metabólicas y de difusión en el organismo. A lo largo de todo este recorrido metabólico pueden ser detectados desde el exterior gracias a su propiedad de emitir radiación, lo cual permite su utilidad como trazadores biológicos¹.

Todos los usos terapéuticos de los radioisótopos dependen de la capacidad de las radiaciones de ionizar los átomos de las sustancias que atraviesan; esta ionización, a su vez, conduce a cambios químicos y biológicos. Los usos en diagnóstico médico se deben a que las radiaciones pueden detectarse con facilidad y medirse cuantitativamente.

Los métodos modernos de diagnóstico con radioisótopos consisten en introducir una fuente de emisores gamma en el organismo, localizar y medir en el exterior la radiación electromagnética emitida en equipos capaces de expresarla en términos cuantitativos. Las técnicas que se basan en estos fundamentos, se conocen como técnicas de diagnóstico centellográficos, con los cuales se obtiene la representación bidimensional de los órganos o tejidos en estudio y la información funcional de dichos órganos (ensayos dinámicos y cinéticos). También las sustancias radiactivas se emplean en algunas investigaciones de tipo fisiológico o químico-biológico. La medicina nuclear se ha desarrollado siguiendo el tratamiento y el diagnóstico de las enfermedades¹.

Los radioisótopos más utilizados en medicina nuclear son el Iodo 131 y el Tecnecio 99m. El I-131 se desintegra por emisión de radiaciones gamma de 364 KeV y también por emisiones beta de 606 KeV, al utilizarlo, incorporamos al organismo radiaciones beta innecesarias. Presenta además un período de semidesintegración de 8,04 días. Se utiliza para

(*) E-mail : d160025@unmsm.edu.pe

marcar compuestos a los cuales el Tecnecio no se incorpora fácilmente.

El Tc 99m presenta varias ventajas para ser utilizado en medicina nuclear; posee un período de semidesintegración corto, radiaciones gamma monoenergéticas de 140 KeV, (energía ideal para los equipos de detección actuales). Asimismo, posee la propiedad química de formar complejos con moléculas que posean en su estructura átomos de N, O y S².

Es necesario conocer el método utilizado en el país para obtener la solución Tecnecio, ya que tenemos como objetivo producir el EC de acuerdo a las características de esta solución.

PRODUCCIÓN DEL TECNECIO 99m

Se obtiene a partir del óxido de molibdeno 98 natural o enriquecido irradiado con neutrones o también como subproducto de fisión del óxido de uranio 235 irradiado con neutrones en un reactor de alto flujo. De estos procesos se obtiene Mo-99 el cual al desintegrarse espontáneamente, por emisión de radiaciones beta negativa, origina los diferentes isótopos del Tc 99.

El Tc 99m puede ser separado de su "padre" Mo 99, por uso de generadores basados en columnas cromatográficas o por técnicas de extracción con solventes.

RADIOFÁRMACOS

Se conocen como drogas radiactivas o formulaciones químico-medicinales que contienen uno o más radionucleidos como parte integral de su composición, sea orgánica o

inorgánica. Se caracterizan por emitir radiación b o g con una determinada energía de emisión, dependiendo de la cantidad y calidad de esta energía emitida el radiofármaco será usado para terapia o diagnóstico¹

Un radiofármaco a diferencia de un fármaco no implica efecto farmacológico en el sentido estricto de la palabra; se ha aconsejado llamarle «trazador radiactivo» pero, debido a que en su uso se aplican los principios básicos de la farmacocinética y los procesos de control de calidad de los fármacos son denominados radiofármacos².

Los radiofármacos pueden ser clasificados en dos tipos: terapéuticos y de diagnóstico. En Medicina Nuclear casi el 95% de los radiofármacos son usados para el diagnóstico y de todos ellos el 85% son radiofármacos del Tc - 99m³.

Se administra en general por vía intravenosa por lo que deben ser estériles y libres de pirógenos cumpliendo con el control de calidad de una droga comercial (inyectable) y una vez localizado en un órgano determinado del cuerpo se detecta con el equipo adecuado.

FUNCIÓN DE LOS RADIOFÁRMACOS

Son verdaderos trazadores radiactivos y se administran con el fin de visualizar la anatomía de un órgano o sistema, evaluar el comportamiento fisiopatológico a nivel de los tejidos, analizar a través de su metabolismo el comportamiento bioquímico o determinar cuantitativamente sus parámetros farmacocinéticos; comparando estos resultados con los

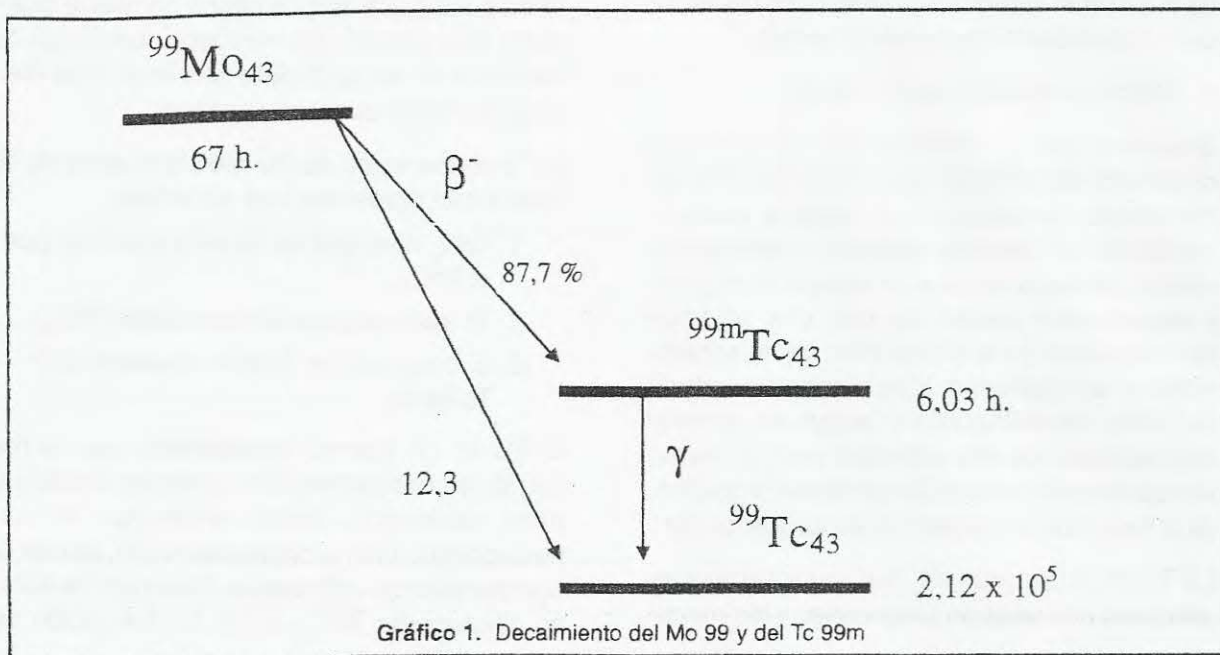


Gráfico 1. Decaimiento del Mo 99 y del Tc 99m

obtenidos en una población de seres humanos normales^{2,3}.

Tratamiento de enfermedades

Para cumplir su acción terapéutica, el radiofármaco administrado en cantidades suficientes (mCi) debe acumularse selectivamente en el tejido u órgano alterado permitiendo de esta manera que las radiaciones emitidas destruyan total o parcialmente el tejido circundante. Su aplicación se da en el tratamiento de enfermedades mortales tales como la leucemia y el cáncer principalmente, también como paliativos sintomáticos en algunas otras enfermedades⁴.

Diagnóstico de enfermedades

Los métodos de diagnóstico que actualmente se emplean son¹:

a. Método de análisis de muestras y Radioinmunoanálisis

En estos métodos, se administra al paciente una dosis trazadora (mCi) de un compuesto radiactivo y luego se determina su concentración en muestras de sangre, orina o heces, según corresponda.

b. Métodos de detección externa:

Estos métodos se basan en el estudio de la variación a nivel de un determinado órgano o tejido de la actividad de un compuesto radiactivo administrado al paciente en función del tiempo. La radiactividad en el órgano o tejido se mide externamente mediante un detector, conectado a un sistema analizador capaz de cuantificar y registrar variaciones de actividad producidas durante cierto tiempo.

c. Métodos de localización visual:

Basados en la localización dentro del organismo del radiofármaco emisor gamma administrado. La radiación es captada exteriormente por un sistema detector convenientemente colimado unido a un equipo analizador y registrador capaz de dar una imagen bidimensional de la distribución de la radiactividad en el organismo. Esta técnica es conocida como centellografía y exige en general radioisótopos de alta actividad pero al mismo tiempo de corto período de semidesintegración, para disminuir la irradiación en los pacientes.

La biodistribución de los radiofármacos utilizados con fines de diagnóstico y los meca-

nismos de localización en los órganos o tejidos blandos dependen principalmente de sus propiedades físico-químicas, farmacológicas y farmacocinéticas. El transporte in vivo de los compuestos marcados se ve condicionado por las características de la molécula portadora del radionucleído. Así la absorción, transporte, captación, excreción y biodisponibilidad variarán en función de las propiedades de esa molécula. El objetivo es aplicar a la molécula una función específica, por tanto los mecanismos de localización de cada molécula, son los que van a permitir un estudio orgánico morfológico y/o funcional⁵.

FORMULACIÓN Y MARCACIÓN DEL EC

El objetivo de un estudio de formulación es evaluar los parámetros químicos y físicos para obtener un protocolo de producción de un kit del agente de radiodiagnóstico. Un kit o juego de reactivos se presentan en un frasco estéril que contiene los compuestos químicos no radiactivos que se requieren para producir un determinado radiofármaco, luego de reaccionar con el pertecnetato de sodio. Las sustancias presentes en el juego de reactivos son principalmente el agente complejante (ligando) y el agente reductor; usualmente cloruro estannoso.

Para la preparación se agrega a la solución del agente complejante, a un pH definido, el cloruro estannoso en solución ácida. El preparado se divide en alícuotas que se colocan en frascos pre-esterilizados (viales) de 5 mL de capacidad. El producto puede almacenarse en forma liofilizada o congelada hasta el momento de su uso. En ambos casos conviene guardarlo bajo presión de nitrógeno. Un juego de reactivos en solución dura sólo uno o dos días pero liofilizado dura varios meses.

En la preparación de los radiofármacos de Tc 99m están presentes tres especies:

1. TcO_4^- libre que no ha sido reducido por el Sn(II).
2. Tc 99m reducido e hidrolizado (TcO_2).
3. El complejo de Tc 99m deseado (EC - Tc 99m).

El EC es un ligando tetradentado que forma con el ion oxotecnecio un complejo estable y para obtenerlo debe reducirse el ion pertecnetato (VII) a oxotecnecio (V), donde el agente reductor utilizado es el cloruro de estaño dihidratado: $SnCl_2 \cdot 2H_2O$. La formación de

este complejo es favorecida por la hidrólisis de los grupos carboxílicos del EC; por lo que, el proceso de complejamiento debe realizarse en un sistema de pH básico que se mantiene preferiblemente con un buffer fosfato. Posteriormente a la formación del complejo el pH del sistema debe neutralizarse para ser inyectado en pacientes.

El procedimiento de formulación y marcación del EC se basa en el trabajo publicado por Verbruggen⁶ en 1992, el cual es el siguiente:

En un vial de 10 mL se adiciona sucesivamente 1 mL de solución acuosa de L,L-EC (0,1-5 mg/mL) a pH 6-13, 5 - 100 μg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ disuelto en 25 μL HCl 0,05 N y 2,8 mL del eluido de un generador comercial de Mo 99/Tc 99m conteniendo 370 MBq - 3700 MBq de pertecnetato. Después de un período de incubación de 10 s - 10 m el pH se ajustó a $7 \pm 0,5$ por adición del volumen requerido de una solución buffer fosfato 0,5 M de pH 5.

Para la marcación del EC, Blondeau⁷ utiliza una solución de Tecnecio obtenida a partir de un generador. Sin embargo, la solución de Tecnecio obtenida en el país presenta características particulares; lo cual hace necesario realizar un estudio completo de los parámetros que determinan el rendimiento de marcación, lo que comúnmente se conoce como Pureza Radioquímica (PRQ).

PARTE EXPERIMENTAL FORMULACIÓN Y MARCACIÓN DEL EC CON TC 99M

El kit de marcación estará compuesto por 2 viales, el primero contendrá el EC y el estaño disueltos en una solución buffer fosfato de pH básico y el segundo vial contendrá una solución buffer fosfato de bajo pH que se utilizará para neutralizar el primer vial luego de marcado.

Las variables químicas a evaluar en el caso del EC son la cantidad de ligando, el pH de formulación, la cantidad de Sn(II), el tiempo de incubación post-marcación luego del cual el sistema puede ser neutralizado y la estabilidad del complejo formado a través del tiempo.

Las pruebas de formulación se realizan para obtener 20 ó 30 mL de solución de EC que contiene el agente reductor. Esta solución es luego dispensada en viales de 5 mL a razón de 1 mL por vial y sellados bajo ambiente de nitrógeno gaseoso para evitar la oxidación del estaño. Antes de empezar, todas las soluciones utilizadas durante el proceso de formulación

deben saturarse con nitrógeno gaseoso, por lo menos durante 15 minutos, para eliminar el oxígeno disuelto en ellas.

Marcación es la reacción que brinda como resultado el complejo de EC-Tc 99m. En este proceso se inyecta a un vial formulado; 1 mL de solución salina que contiene el pertecnetato de sodio; el cual es reducido por el estaño y forma el complejo de EC-Tc 99m. Este proceso de marcación del ligando EC ocurre a temperatura ambiente y luego de un tiempo de incubación post-marcación el vial es neutralizado.

Se realizaron pruebas de formulación evaluando la influencia de los factores de pH, cantidad de ligando, cantidad de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y el tiempo de incubación post-marcación.

PROCEDIMIENTO GENERAL

Para 30 mL de solución formulada.

— En un vaso de 100 mL provisto de un baño de hielo y un agitador magnético se coloca el peso calculado de EC en 25 mL de buffer fosfato de pH básico (pH de formulación). La disolución es lenta, el EC se disuelve totalmente y la solución debe ser transparente y limpia, se mantiene en nitrogenación constante y se anota el pH de esta solución.

— Preparación de la solución de estaño: pesar 0,1 g de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y disolver en 0,1 mL de HCl concentrado, enrasar a 5 mL. Luego, adicionar muy lentamente la cantidad necesaria de la solución de estaño preparada al momento; evitando que la solución se vuelva turbia, el pH bajará levemente. La solución debe ser limpia y transparente. Anotar el pH.

— Llevar el pH de la solución con hidróxido de sodio 3N hasta su valor de formulación.

— Enrasar con buffer fosfato hasta 30 mL. Anotar el pH final de formulación.

— Pasar la solución por un filtro de 0.22 μm , fraccionar 1 mL por vial y sellar en atmósfera de nitrógeno.

EVALUACIÓN DEL PH DE MARCACIÓN

Se realizaron pruebas de formulación evaluando la influencia del pH de marcación sobre el rendimiento de la pureza radioquímica (PRQ). El rango de los valores de pH evaluados fue entre 7 y 13.

En todas las pruebas de formulación se mantuvieron constantes los siguientes factores por mL de solución formulada :

Ligando EC = 3 mg
SnCl₂·2H₂O = 100 mg

Tiempo de incubación:
post-marcación = 20 minutos
Actividad de marcación = 2 mCi
pH final de marcación = 7,0

OBSERVACIONES EXPERIMENTALES

Durante el proceso de formulación se observó dificultad para disolver el EC a valores de pH entre 7 y 9, quedando en algunos casos una ligera turbidez debida al ligando no solubilizado. A valores de pH entre 10 y 13 la solubilidad del EC mejora notablemente; llegando a ser casi inmediata a pH de 12,5 y 13.

La adición de la alícuota de solución ácida de SnCl₂·H₂O forma mayor cantidad del coloide Sn(OH)₂ a medida que aumenta el valor de pH de formulación. Este coloide enturbia notablemente la solución pero se observa su disolución hasta quedar una solución casi transparente a valores de pH mayores a 11,5.

EVALUACIÓN DE LA CANTIDAD DEL LIGANDO EC

La cantidad de ligando que es recomendable utilizar es de 1 a 5 mg por mL de solución formulada. Las pruebas de formulación se iniciaron con 3 mg de EC por ser un valor intermedio.

Se evaluó el porcentaje de PRQ con cantidades de ligando de 1 y 5 mg por mL. Los factores constantes en estas pruebas fueron :

pH de formulación = 12,0
SnCl₂·2H₂O = 100 mg

Tiempo de incubación
post-marcación = 20 minutos
Actividad de marcación = 2 mCi
pH final de marcación = 7,0

OBSERVACIONES EXPERIMENTALES

El pH de formulación permite una disolución rápida del ligando aún considerando el incremento de la cantidad empleada. La adición de la alícuota de la solución ácida de SnCl₂·2H₂O se hace lentamente a este pH para evitar la

formación de una gran cantidad del coloide Sn(OH)₂.

EVALUACIÓN DE LA CANTIDAD DEL AGENTE REDUCTOR

La cantidad de pertecnetato de sodio añadido durante las pruebas preliminares de marcación (2mCi), justifica menos de 100 mg por mL de solución formulada. Sin embargo, considerando los siguientes factores:

- Aún no se ha obtenido un porcentaje de pureza radioquímica reproducible mayor al 90%.
- Que en el futuro se utilizará mayor cantidad de actividad para la marcación.
- Las pérdidas del agente reductor en el proceso de preparación de la solución de estaño.
- El cambio brusco de pH que ocurre al adicionar la alícuota de esta solución en el proceso de formulación.

se decidió realizar pruebas con cantidades mayores a 100 mg de SnCl₂·2H₂O. Los factores tomados como constantes en estas pruebas fueron:

pH de formulación = 12,00
Ligando EC = 1 mg

Tiempo de incubación
post-marcación = 20 minutos
Actividad de marcación = 2 mCi
pH final de marcación = 7,0

OBSERVACIONES EXPERIMENTALES

Se observó la tendencia a la formación de mayor cantidad del coloide Sn(OH)₂ al utilizar cantidades de estaño mayores a 100 ug. Una adición lenta de la alícuota de estaño y una constante y eficiente agitación permiten una redisolución de este coloide, quedando una solución ligeramente turbia o totalmente transparente. El coloide no redisoluto se elimina al pasar la solución por el filtro de 0,22 um y también forma parte de la pérdida del agente reductor.

EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE INCUBACIÓN POST-MARCACIÓN

La evaluación se realizó buscando el menor tiempo de incubación post-marcación necesario para que se forme el total de las moléculas marcadas. Los tiempos evaluados estuvieron

entre 5 y 30 minutos, luego de los cuales se neutralizó el contenido de cada vial con la cantidad necesaria de solución de Buffer fosfato 0,5 M de pH 5,0. Los factores considerados como constantes en estas pruebas fueron:

pH de formulación = 12,00
 Ligando EC = 1 mg
 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ = 500 μg
 Actividad de marcación = 2 mCi
 pH final de marcación = 7,0

OBSERVACIONES EXPERIMENTALES

No se notaron mayores diferencias a las ya descritas en las pruebas anteriores.

MARCACIÓN DEL EC CON $\text{Tc } 99\text{m}$

Cada una de las pruebas de formulación fue marcada con 2 mCi siguiendo el siguiente procedimiento:

- Primeramente, todo trabajo que implique el uso de soluciones radiactivas se realiza considerando las medidas de seguridad necesarias. Para este caso, se utiliza guantes de plástico descartables y todo el proceso se realiza en el interior de un castillo de plomo armado en una campana radioquímica.
- Se toma el vial de solución madre de pertechnetato de sodio y se mide la actividad que presenta en una cámara de ionización (contador gamma).
- Se extrae con una jeringa limpia la cantidad de solución madre que contenga la actividad a utilizar y se coloca en un vial limpio.
- Se lleva a 1 mL con solución de suero fisiológico (NaCl 0,9 %).
- Se inyecta esta solución de pertechnetato al vial formulado y se mantiene en un blindaje de plomo.
- Pasado del tiempo de incubación se inyecta al vial la cantidad necesaria de buffer fosfato

0,5 M de pH 5,0 para llevarlo a pH 7,0 sin sacarlo del blindaje en el que se encuentra.

- Luego de este proceso se realiza en el vial las pruebas de marcación (porcentaje de pureza radioquímica, pH).

DISTRIBUCIÓN BIOLÓGICA

El Kit de formulación propuesto debe tener las características biológicas de biodistribución; es decir, el complejo debe ser absorbido eficientemente por los riñones y excretado en la orina. Antes de iniciar el ensayo de biodistribución, se requiere comprobar la atoxicidad del ligando EC preparado.

Para determinar la toxicidad aguda del ligando, se inyecta 0,1 ml de solución de EC (1 mg de EC se disuelve en buffer fosfato 0,05 M de pH 12 y luego se lleva a pH 7) a cada uno de cinco ratones CFW la dosis inyectada equivale a 500 veces más que la dosis a utilizar en humanos, en proporción al peso del animal. Los ratones fueron puestos en observación durante una semana, se considera no tóxico si ningún animal presenta reacciones adversas o muere. Ningún ratón murió y tampoco presentaron cambios en su comportamiento normal; por lo que, el ligando se considera atóxico.

En el ensayo de biodistribución se inyecta a un par de ratones CFW 0,1 mL del complejo trazador obtenido según el reciente estudio. Los ratones fueron sacrificados entre los 5 y 60 minutos y luego se realiza la disección extra-riendo los principales órganos vitales, se pesan y se mide la radiactividad que presentan.

RESULTADOS

Formulación y marcación del N.N-BIS-L-(1-Carboxi-2-Mercaptoetil) Etilendiamina (EC) con $\text{Tc } 99\text{m}$.

Se obtuvieron los siguientes resultados en la evaluación de los parámetros de formulación:

FORMULACIÓN	COMPOSICIÓN POR VIAL		pH de MARCACIÓN	pH FINAL DE MARCACIÓN	PRQ
	EC (mg)	$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (μg)			
1	3	100	7,8	7	31 %
2	3	100	8,4	7	56 %
3	3	100	9,4	7	72 %
4	3	100	11,6	7	76 %
5	3	100	12,0	7	76 %
6	3	100	12,0	7	78 %
7	3	100	12,6	7	74 %

Tabla 1. Efecto del pH de marcación sobre la Pureza Radioquímica (PRQ).

Tabla 2. Efecto de la Cantidad de Ligando sobre la PRQ.

FORMULACIÓN	COMPOSICIÓN POR VIAL		pH de MARCACIÓN	pH FINAL DE MARCACIÓN	PRQ
	EC (mg)	SnCl ₂ .2H ₂ O(μg)			
6	3	100	12	7	78 %
8	1	100	12	7	93,4 %
9	1	100	12	7	91,4 %

Tabla 3. Efecto de la Cantidad de Agente Reductor sobre la PRQ

FORMULACIÓN	COMPOSICIÓN POR VIAL		pH de MARCACIÓN	pH FINAL DE MARCACIÓN	PRQ
	EC (mg)	SnCl ₂ .2H ₂ O(μg)			
9	1	100	12	7	91,4 %
10	1	200	12	7	94,4 %
11	1	400	12	7	98,4 %
12	1	500	12	7	99,6 %
13	1	600	12	7	93,8 %

Tabla 4. Efecto del Tiempo de Incubación Post-marcación sobre la PRQ.

FORMULACIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN (*)	PRQ
12	10	97,8 %
14	15	99,3 %
15	20	99,2 %
16	25	99,6 %
17	30	99,1 %

(*) Tiempo en minutos.

Tabla 5. Estabilidad del complejo EC - Tc 99m.(*)

FORMA QUÍMICA	SOLUCIÓN INICIAL		SOLUCIÓN DILUIDA (**)	
	0 HORAS	4 HORAS	0 HORAS	4 HORAS
EC - Tc 99m	99,70 %	99,29 %	99,38 %	99,0 %
TcO ₄ ⁻	0,17 %	0,60 %	0,26 %	0,12 %
TcO ₂	0,11 %	0,11 %	0,36 %	0,87 %

(*) Composición : 1mg EC, 500 μg SnCl₂.2H₂O, 2mCi de NaTcO₄, 15 minutos de incubación, pH final 7.

(**) Dilución [1:5] en Buffer fosfato 0,05 M de pH 7,0.

DISTRIBUCIÓN BIOLÓGICA

1) Tiempo : 5 minutos

Hora Marc. : 11:00 am.

Peso (g) : 31,52

Actividad : 5 mCi

Vol. lny. : 0.1 mL

Volumen : 5,3 mL

Hora de lny. : 1:40 pm.

Hora de Sacr.: 1:46 pm.

Prom. Est. : 621.00

1% Est. : 578.12 Prom. Fondo: 26.00

	PESO (g)	CUENTAS (c/10s)	CUENTAS Netas	% D.I./ORG.	% D.I./g.
Sangre	0.27	433.00	3325.94	5.75	2.23
Hígado	1.66	4794.00	4768.00	8.25	3.20
Bazo	0.14	52.00	26.00	0.04	0.02
Pulmones	0.17	183.00	157.00	0.27	0.11
Riñones	0.50	26268.00	26242.00	45.39	17.59
Estómago	0.35	212.00	186.00	0.32	0.12
Int. Delgado	1.93	1837.00	1811.00	3.13	1.21
Int. Grueso	2.60	1419.00	1393.00	2.41	0.93
Vejiga + Orina	0.19	109543.00	109517.00	189.44	73.41
Corazón	0.18	95.00	69.00	0.12	0.05
Cola	0.80	1715.00	1689.00	2.92	1.13

Observaciones: Solución Inicial con PRQ 99,60 %. Se usó una solución Diluída [1:5] Buffer Fosfato de pH 7.00 con PRQ 99,18 %.

2) Tiempo : 60 minutos

Hora Marc. : 11:00 am.

Actividad : 5 mCi

Volumen : 5,3 mL

Peso (g) : 33,32

Vol. Iny. : 0.1 mL

Hora de Iny. : 12:05 m

Hora de Sacr.: 1:10 pm.

Prom. Est. : 670.00

1% Est. : 643.12

Prom. Fondo : 26.00

ORGANO	PESO (g)	CUENTAS (c/10s)	CUENTAS Netas	% D.I./ORG.	% D.I./g.
Sangre	0.12	38.00	233.24	0.36	0.16
Hígado	1.91	429.00	403.00	0.63	0.33
Bazo	0.11	28.00	2.00	0.00	0.03
Pulmones	0.34	40.00	14.00	0.02	0.06
Riñones	0.57	170.00	144.00	0.22	0.39
Estómago	0.34	56.00	30.00	0.05	0.14
Int. Delgado	1.91	1691.00	1665.00	2.59	1.36
Int. Grueso	1.96	54.00	28.00	0.04	0.02
Vejiga + Orina	0.23	1670.00	1644.00	2.56	11.11
Corazón	0.19	28.00	2.00	0.00	0.02
Cola	0.95	114.00	88.00	0.14	

Observaciones: Solución Inicial con PRQ 99,60 %. Se usó una solución Diluída [1:5] Buffer Fosfato de pH 7.00 con PRQ 99,38 %.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

FORMULACIÓN Y MARCACIÓN DEL EC CON Tc 99m

Para obtener un protocolo de producción de un agente de radiodiagnóstico es de suma importancia evaluar su PRQ en función de distintos parámetros. En el caso del EC éstos parámetros son: pH, cantidad de ligando, cantidad del agente reductor y el tiempo de incubación post-marcación.

Por otro lado, la cantidad de agente reductor tiene relación directa con las características de la solución de tecnecio que se obtiene en el Perú. Los resultados obtenidos (**Tablas 1, 2, 3, 4**) nos indican que es preferible trabajar con 500 mg de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ por mililitro de solución formulada asegurando de esta manera una pureza radioquímica superior al 98 %.

Purezas Radioquímicas mayores al 97 % se obtienen al adoptar un tiempo de incubación de 15 minutos, el cual es suficiente para la formación total del complejo. **Tabla 4.**

Los resultados mostrados en la tabla 5 indican una PRQ mayor al 99 % hasta 4 horas post-marcación, comprobándose la estabilidad del complejo obtenido.

PARÁMETROS FINALES DE FORMULACIÓN

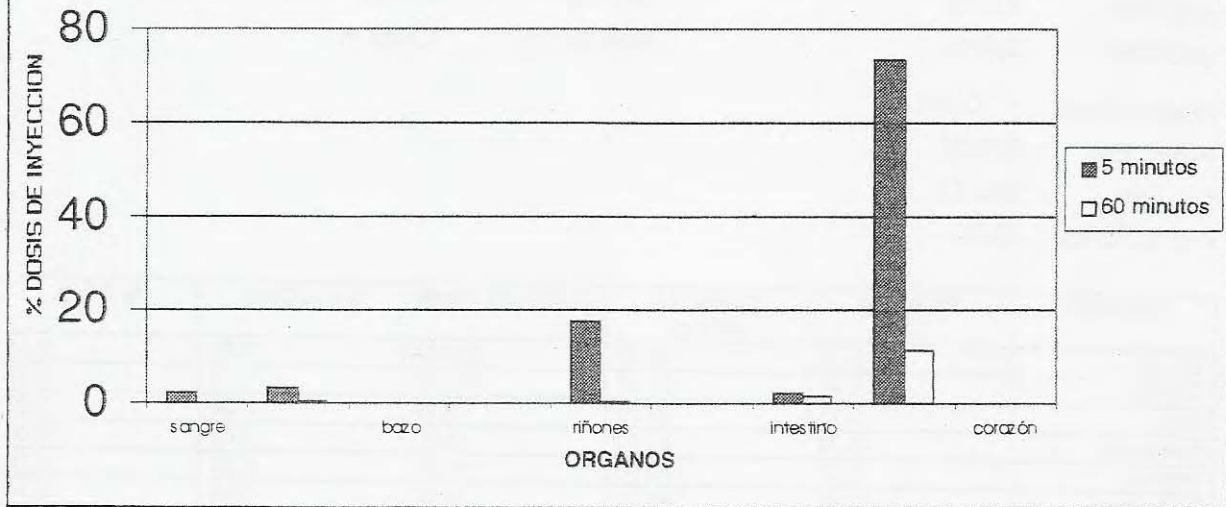
Contenido por vial :

EC	=	1 mg
$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	=	500 μg
pH de Formulación	=	12
Tiempo de Incubación	=	15 minutos.
Actividad de marcación	=	2 mCi
pH final de Marcación	=	7
Pureza Radioquímica	>	98 %

DISTRIBUCIÓN BIOLÓGICA

De los resultados se obtiene el siguiente gráfico.

DISTRIBUCION BIOLÓGICA DEL EC - Tc 99m A LOS 5 Y 60 MINUTOS POST- INYECCION



De la gráfica se puede observar que a los 5 minutos post-inyección se tiene menos del 2,5 % de la dosis inyectada en la sangre, menos del 3,5 % en el hígado y menos del 1,25 % en el intestino. Se observa además 17,6 % de absorción en el riñón y 73,41 % de absorción en la vejiga y orina. En los demás órganos se tiene menos del 1 % de la dosis inyectada

A los 60 minutos post-inyección se tiene 1,36 % en el intestino y 11,11 % en la vejiga y orina. En los demás órganos se tiene menos del 0,4 % de la dosis inyectada. Todos estos resultados son comparables con los que se obtienen con el MAG_3 .

Todos estos resultados indican que el producto obtenido cumple con las características de biodistribución deseadas y que es factible de utilizar para realizar estudios de la función renal.

Las ventajas que presenta respecto al Hipurán son principalmente el utilizar como radioisótopo de marcación el Tecnecio y no el Iodo; además, de no requerir un probable proceso de purificación post-marcación que necesariamente incluye contaminación de materiales y equipos e irradiación del personal.

Con respecto al MAG_3 , la principal ventaja se tiene en el proceso de preparación del ligando, pues no incluye utilizar reactivos demasiado tóxicos y peligrosos como sí lo requiere el MAG_3 . Además, otra ventaja es el rendimiento que, en el caso del EC es mucho mayor y la

facilidad de su preparación permite obtenerlo en gran cantidad; esto permite asegurar suficiente cantidad de EC para utilizarse en los siguientes años, sin la necesidad de volverlo a preparar.

Por todos estos resultados proponemos al EC como una excelente alternativa para el estudio de la función renal.

CONCLUSIONES

1. Se obtiene la siguiente composición óptima por vial :

EC	: 1 mg
$SnCl_2 \cdot 2H_2O$: 500 μg
pH de Formulación	: 12,0
2. Se obtienen los siguientes parámetros de marcación:

Tiempo de incubación	: 15 minutos
pH final de Marcación	: 7,0
Pureza Radioquímica	: > 98 %
3. La marcación efectiva con solución de Tecnecio obtenido por extracción con solventes requiere mayor cantidad de estaño debido principalmente a la pérdida de actividad específica.
4. La biodistribución del EC-Tc 99m en ratones reporta a los 5 minutos una buena absorción en los riñones y a los 60 minutos una elevada depuración renal.

El presente trabajo fue realizado en los laboratorios de Desarrollo del Area de Control de Calidad de la Planta de Producción de Radioisótopos del Centro Nuclear de Huarangal del IPEN en Puente Piedra.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Doménech-Torné F. M., Setogin J., Galofré P. y otros. *Medicina Nuclear y Aplicaciones Diagnósticas de los Isótopos Radiactivos*. Editorial Científico Médica (1980).
- [2] Arteaga de Murphi C. El Tecnecio en la Medicina Nuclear. Sociedad Mexicana de Medicina Nuclear. México D.F. Setiembre (1989).
- [3] Belcher E. H. and Vetter H. *Radioisotopes in Medical Diagnostic*. Butherworths (1971).
- [4] Mallol J., Radiofarmacia: *Trazadores Radiactivos de uso Clínico*. Edit. Interamericana. 1º Edición, (1989).
- [5] Pérez Piqueras J. L.; Labanda Tejedor J.P.; Sánchez Mayorca A. *Medicina Nuclear Clínica*. Editorial Marban, S.L. 1º Edición. (1994).
- [6] Verbruggen, A. M.; Nosco, D.L.; Van Nerom, C.G.; Bormans, G.M.; Adriaens, P.j.; De Roo, M.J. Technetium-99m-L,L-Ethylendicisteine: A Renal Imaging Agent. I. Labeling and Evaluation in Animals. *J. Nucl. Med.* **33** (1992), 551 - 557.
- [7] Blondeau P., Berse C., y Gracel D. Dimerization of an Intermediate during the Sodium in Liquid Ammonia Reduction of L-Thiazolidine-4-Carboxylic Acid. *Can. J. Chem*, **45** (1967), 49-52.
-