

## “MARCACION DE YODOTRIMETIL—IDA CON $^{99m}\text{Tc}$ Y DESARROLLO DE JUEGO DE REACTIVOS PARA CENTELLOGRAFIA HEPATOBILIAR”

Elizabeth Chacón, Ana Robles, Alfredo Díaz,  
Juan Quezada

*Instituto Peruano de Energía Nuclear, Apt. 1687, Lima - Perú*

*Received December 2, 1988*

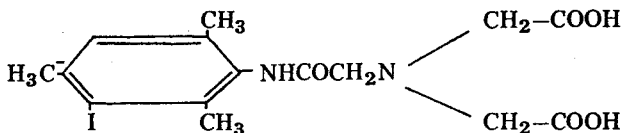
### Resumen

*Se ha desarrollado el sistema de juego de reactivos liofilizado del producto 3 yodo 2, 4, 6, trimetilfenilcarbamoilmetiliminodiacético-Tc-99m (yodofenin). Para ello se ensayaron nuevas concentraciones de yodofenin y cloruro estañoso dihidratado en hidróxido de sodio y ácido clorhídrico que son los medios de disolución de estos reactivos respectivamente, con el fin de preparar una solución final de pH 5.5 a 6.0 con un mínimo de coloide, principal interferencia para la preparación de lotes liofilizados de este producto. El producto finalmente obtenido tiene una pureza radioquímica promedio de 97 o/o, adecuada fijación en vías biliares y se ajusta a las especificaciones requeridas para su uso en radiodiagnóstico hepatobiliar.*

### 1. INTRODUCCION

Los derivados del ácido iminodiacético han sido empleados hace años para el estudio de vías biliares existiendo una variedad de los mismos, entre los cuales se ha comprobado que los derivados halogenados tienen las mejores características para los estudios por centellografía hepatobiliar. Entre los derivados halogenados el más ampliamente estudiado hasta ahora ha sido el bromofenin, (3 bromo, 2, 4, 6 trimetilfenincarbamoilmetil iminodiacético) y en el resultado de estudios comparativos con otros derivados IDA no halogenados se ha logrado establecer que el derivado halogenado del ácido iminodiacético presenta las siguientes características: a. Mayor especificidad hepática [1]; b. Mayor eficiencia de tránsito [2]; c. Mayor tiempo medio de eliminación [2]; d. Menor velocidad de excreción renal [1]; e. Mayor estabilidad in vivo [3].

En los estudios con yodofenin se ha comprobado que el yodofenin y bromofenin son los más resistentes a los efectos competitivos de la bilirrubina y a la bromosulfaleína (ésta última inyectada en animales), al parecer la estructura de los ligandos está asociada a ésta capacidad de competencia, en este mismo trabajo de E. Chiotellis y A. Varvarigou [4] se logró establecer que el yodofenin tiene la más baja eliminación en sangre con respecto al mebromofenin. En el presente trabajo se marcará y desarrollará el juego de reactivos para Tc-99m del 3 yodo, 2, 4, 6 trimetilfenilcarbomoil metil iminodiacético, también llamado yodo trimetil IDA o yodofenin:



Este compuesto compleja fácilmente con el tecnecio en sus valencias químicamente más reactivas: TcIII, TcIV, TcV pero tiene limitaciones de solubilidad en medio ácido que es a su vez el medio óptimo para su marcación con Tc-99m, de allí la necesidad de determinar las concentraciones para el yodofenin y el agente reductor en sus respectivos disolventes, así como los volúmenes en que ambos deberán mezclarse para ajustar el pH a 5.5 - 6.0 y establecerse finalmente la composición química del juego de reactivos cuyas especificaciones se ajustarán a las requeridas para su uso en centellografía hepato-biliar.

## 2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 2.1. Material y Método para establecer la formulación del juego de reactivos yodofenin - Tc-99m.

La formulación dada por A.E. Mitta [5] indicaba las concentraciones: 44 mg yodofenin/ml NaOH 0.25N y 3 mg SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O/ml HCl 0.15N que para llegar al pH 5.5 - 6.0 se mezclaron en la relación 3.3 al 1 v/v. Pero el excesivo desarrollo del coloide al término de la preparación nos planteó la necesidad de ensayar nuevas concentraciones de yodofenin y cloruro estañoso en sus respectivos disolventes.

Considerando que el contenido de yodofenin por vial (para 3 dosis) sería de 10 mg, se buscó la mínima normalidad necesaria de NaOH para disolver 10 mg de yodofenin probándose con las siguientes: 0.5N, 0.25N, 0.125N, 0.0625N, observándose macroscópicamente que la solución 0.125N fue suficientemente concentrada como para disolver totalmente los 10 mg de yodofenin. Esta primera modificación condujo a buscar el nuevo volumen de solución de estaño para llegar al pH deseado que para 10 mg de yodofenin en 1 ml de Na OH 0.125N fue de 0.8 ml con lo que se llegaba al pH 6.0 aparente-

mente con insignificante cantidad de coloide pero al preparar un lote de 50 mg de yodofenin el desarrollo de coloide fue acelerado desde las primeras adiciones de la solución de estaño, se procedió entonces a modificar la concentración de la solución del estaño. La formulación de A. E. Mitta indicaba 74ug de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  por dosis para una preparación de inmediatamente se filtraba y esterilizaba por filtro millipore y se marcaba con unos 5 mCi de Tc-99m para su aplicación, pero nuestra necesidad es de preparar un lote para unas 150 dosis y su posterior liofilización lo que implica un mayor requerimiento de ión estañoso en solución por lo que pudiera perderse por oxidación durante todo el proceso, teniendo como referencia la magnitud de los contenidos de reductor por dosis en otros juegos de reactivos que tienen similar proceso de preparación y liofilización, se ensayó con una solución que tendría unos 180 ug de ión estañoso por dosis. Así, la nueva formulación es: 11.11 mg yodofenin/ml NaOH 0.125N y 0.57 mg  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /ml HCl 0.15N que para llegar al pH 5.5-6.0 se mezclaron en la relación 1.5 a 1.0 respectivamente.

Cuidando los detalles del modo operativo para la preparación del lote se consiguió una solución final adecuadamente transparente.

## 2.2 Material y Método para la preparación del juego de reactivos yodofenin - Tc-99m

Se disolvieron 500 mg de 3 yodo 2, 4, 6 trimetilfenilcarbamoilmetiliminodiacético (sintetizado por A. E. Mitta [6], en unos 45 ml de solución NaOH 0.125 N, se agregó luego por lento goteo una solución de unos 300 ug de ión estañoso ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) por ml de HCl 0.15 N en constante agitación hasta llegar a un pH 5.5 - 6.0. Se llevó luego a un volumen final de 100 ml y se fraccionó a través de filtro millipore en ml/vial para su posterior liofilización.

## 2.3. Marcación de Yodofenin - Tc-99m

Para efecto de la marcación con Tc-99m fue necesario nitrogenar todas las soluciones que intervienen en la preparación del juego de reactivos y mantener este ambiente inerte durante el fraccionamiento de la solución final con el fin de mantener el estado divalente del ión estañoso que actuará como reductor del Tc-99m en el momento de la marcación. La marcación se realizó reconstituyendo el vial con 1 ml de pertecnato de sodio - Tc-99m y agitando para asegurar la completa disolución del producto.

## 2.4. Material y Método de Control de Calidad

- a) Control Físico Químico: sembrado una gota del producto marcado se determinó la pureza radioquímica mediante los siguientes sistemas cromatográficos:
  - Cloruro de sodio 20 o/o - Whatman No. 1 para separar en Rf=0 el producto marcado más el tecnecio reducido (Tecnecio coloidal).
  - Metanol 85 o/o - whatman No. 1 para separar en el Rf=0 el tecnecio reducido.

El contenido de estaño divalente se determinó mediante titulación por yodimetría directa y el porcentaje de humedad en el producto liofilizado se determinó por el método de pérdida por secado. Mediante pruebas cromatográficas a diferentes tiempos se determinó el tiempo óptimo post-marcación para el uso del producto marcado.

- b) Control Biológico: Para los ensayos de afinidad biológica se emplearon ratas wistar a las que se hizo disección a los 20 - 30 minutos luego de inyectarle 10  $\mu\text{Ci}$  del pro-

ducto a la vena caudal. Se determinaron las relaciones de conteaje entre las vías biliares y los siguientes órganos: sangre, hígado, riñón gastrointestinal. También se realizó unas pruebas gammagráfica de vías biliares en conejo. El control de esterilidad del producto se realizó en los medios: agar nutritivo, agar sabourand y tioglicolato. Para evaluar la toxicidad del yodofenin se inyectó a la vena caudal de ratones cepa CFW: 500 veces la dosis que se emplea en humanos.

### 2.3. Estudios Preliminares en Humanos

Luego de concluirse todos los ensayos de control de calidad del producto yodofenin-Tc99m se iniciaron algunos estudios preliminares en humanos obteniéndose las imágenes gammagráficas del sistema hepatobiliar, en tres pacientes voluntarios.

## 3. PRESENTACION DE RESULTADOS

### 3.1. Tabla de Resultados de Pureza Radioquímica

LOTE 1			LOTE 2		
o/oP+TcO <sub>2</sub>	o/oTcO <sub>2</sub>	o/oPR	o/oP+TcO <sub>2</sub>	o/oTcO <sub>2</sub>	o/oPR
98.99	0.94	98.05	99.80	1.13	98.67
99.67	0.70	98.97	98.69	1.69	97.00
98.92	0.73	98.19	99.70	1.77	97.93
99.39	0.94	98.45	99.80	3.10	96.70
99.21	1.20	98.01	99.28	2.04	97.24
99.94	0.92	99.02	99.26	1.54	97.72
99.94	0.27	99.67	99.80	1.33	98.47
99.80	3.47	96.33	99.50	1.04	98.46
99.96	0.90	99.06	99.90	1.52	98.38
99.78	0.17	99.61	99.73	1.39	98.34
99.80	4.26	95.54	99.80	1.69	98.11
LOTE 3			LOTE 4		
o/oP+TcO <sub>2</sub>	o/oTcO <sub>2</sub>	o/oPR	o/oP+TcO <sub>2</sub>	o/oTcO <sub>2</sub>	o/oPR
99.80	2.19	97.71	99.80	4.45	95.35
99.90	1.92	97.98	99.00	4.06	94.94
99.45	2.62	96.83	99.80	6.36	93.44
99.98	1.20	98.68	99.80	4.22	95.58
99.80	2.53	97.27	99.80	3.29	96.50
99.80	2.93	96.97	99.80	1.97	97.83
99.80	1.21	98.59	99.50	2.45	96.55
99.80	2.14	97.66	99.80	3.58	96.22
99.80	2.86	96.94	99.80	4.48	95.32
99.80	2.21	97.59	99.80	4.25	95.55
99.80	1.01	98.79			
99.80	1.27	98.53			

LOTE 5			LOTE 6		
o/oP+TcO <sub>2</sub>	o/oTcO <sub>2</sub>	o/oPR	o/oP+TcO <sub>2</sub>	o/oTcO <sub>2</sub>	o/oPR
99.24	1.33	97.94	99.80	1.79	98.00
99.80	2.13	97.67	99.80	2.41	97.39
99.80	1.78	98.02	99.80	1.38	97.92
99.80	2.09	97.71	99.80	3.06	96.74
99.80	1.41	98.39	99.80	2.63	97.17
99.80	1.85	97.95	99.80	2.35	97.45
99.80	2.00	97.80	99.80	2.10	97.70
99.80	1.80	98.00	99.90	3.30	96.60
99.80	1.37	98.43	99.20	1.29	97.91
99.80	2.69	97.11	99.80	2.10	97.70

o/oP-TcO<sub>2</sub> : Porcentaje yodofenin-Tc-99m más coloide TcO<sub>2</sub> (impureza) en Rf = 0 del sistema whatman No. 1 - NaCl 20 o/o.

o/oTcO<sub>2</sub> : Porcentaje de coloide TcO<sub>2</sub> (impureza) en Rf = 0 del sistema Whatman No. 1 - metanol 85 o/o.

o/o PR : Porcentaje de pureza radioquímica neta del producto yodofenin Tc-99m.

### 3.2. Tabla Resumen de Controles Físico Químicos

LOTE	01	n	02	n	03	n	04	n	05	n	06	n
Pureza Radioquímica 9o/o)	98.26±1.30	11	97.91±0.66	11	97.80±0.72	12	95.73±1.16	10	97.90±0.37	10	97.37±0.51	10
Humedad (o/o)	8.23±4.00	2	2.9 ±0.86	2	10 ±0.8	2	3.21±2.81	2	0.59 ±0.01	2	0.63±0.04	2
Iónstano (ug/vial)	62 ± 2.37	3	174 ± 3.9	3	96 ± 8.0	3	127 ± 3.30	3	107 ± 12	3	190 ± 40	3

### 3.3. Tabla de resultados de Pureza Radioquímica para determinar el tiempo óptimo post-marcación

LOTE TIEMPO (min.)	06	05	04	03	02
0	96.97	49.25	82.67	84.40	93.63
5	97.38	78.65	95.96	97.50	96.53
10	97.50	97.87	95.75	97.46	97.83
15	97.67	97.90	96.94	96.00	98.38
20	97.70	97.90	96.94	97.66	99.78

3.4. Tabla de resultados de distribución biológica relaciones de conteaje de vías biliares respecto a los demás órganos de disección.

LOTE	01	01	02	02	02	02	03	03	03
Vías biliares	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Sangre	2.10	1.30	0.36	0.20	1.17	0.59	0.67	0.76	1.25
Hígado	0.64	2.27	0.37	0.42	0.46	0.30	0.35	0.37	0.61
Riñón	13.17	63.10	10.54	14.22	6.14	9.72	5.43	5.61	7.17
Gastro intestinal	31.85	16.07	6.94	8.45	14.14	8.93	20.54	2.28	4.00
LOTE	03	04	04	04	05	05	05	06	06
Vías biliares	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Sangre	7.40	1.00	1.47	4.22	21.27	7.33	1.03	1.02	1.21
Hígado	2.10	0.27	0.42	2.56	4.70	1.77	0.35	0.31	1.05
Riñón	52.29	9.89	11.94	26.67	76.3	54.46	2.30	17.69	18.41
Gastro intestinal	69.04	14.76	0.86	32.94	2.08	58.70	4.33	1.38	10.12

#### 4. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Los resultados de control físico-químico indican que los lotes de yodofenin-Tc-99m preparados presentan una pureza radioquímica bastante reproducible que tiende a un 97 o/o. Durante la preparación del producto son dos los factores mas importantes para obtener una buena pureza radioquímica: la nitrogenación de la solución para prevenir la oxidación del ión estañoso y el ajuste de pH mediante la solución de estaño que debe hacerse con un lento goteo y agitación constante para evitar la formación de coloide que dificultaría el posterior fraccionamiento de la solución y disminuiría la pureza radioquímica.

El porcentaje de humedad es un indicador del proceso de liofilización, probablemente los lotes con más de 5 o/o de humedad tengan menos estabilidad anual. Las cantidades de ión estañoso detectadas por yodimetría nos podría indicar que unos 100 ug. de ión estañoso/vial sería suficiente para la reducción del tecnecio en este producto, pero esto se tendría que evaluar con posteriores pruebas; la variabilidad de la cantidad de ión estañoso /vial entre lotes se debe a la variación de volúmenes de solución de ión estañosos empleados en el ajuste de pH, lo cual se puede superar con la experiencia que adquiriera el operador en la preparación del producto; también debe considerarse la diversidad de factores durante toda la preparación y liofilización del producto que podrían influir en la oxidación del ión estañoso.

La formación del complejo yodofenin-Tc-99m es por lo visto lenta, pues el control de pureza radioquímica inmediatamente después de marcado el producto nos dió algunos resultados más bajos que el transcurrir algunos minutos. Según los resultados de la tabla 3.3 podemos observar que a partir de los 10 minutos post-marcación todos los lotes llegaron al máximo de su pureza radioquímica.

En la tabla 3.4 se presentan los resultados de distribución biológica indicando las relaciones de conteaje entre las vías biliares y los demás órganos, si consideramos las relaciones promedio (sangre: 2.87, hígado: 1.06, riñones: 21.59, gastrointestinal: 16.22) podemos afirmar que en promedio el conteaje encontrado en los demás órganos no será mayor que: 0.35 para sangre, 0.94 para hígado, 0.05 para riñones y 0.06 para gastrointestinal, veces de la que se encontrará en vías biliares.

Entre las pruebas de control biológico también se realizó una prueba en conejo obteniéndose una clara imagen del sistema hepatobiliar a diferentes tiempos hasta los primeros 30 minutos post-inyección.

## 5. CONCLUSIONES

1. Se ha marcado el 3 yodo 2,4,6 trimetilfenilcarbamoilmetilimino diacético (yodofenin) con Tc-99m obteniéndose un producto con una pureza radioquímica promedio de 97 o/o a pH 5.5 - 6.0.
2. El producto yodofenin es limitadamente soluble en medio ácido, pero se ha logrado establecer las concentraciones de soluciones adecuadas y metodología de trabajo para conseguir un producto con un mínimo de coloide.
3. Se ha desarrollado el sistema de juego de reactivos para el producto yodofenin-Tc-99m estableciéndose una relación de 26:1 para los reactivos yodofenin: cloruro estañoso bihidratado en la composición del fármaco.
4. El tiempo óptimo de uso post-marcación se ha establecido en 10 minutos a temperatura ambiente.
5. Según el stock disponible de lotes preparados se ha podido establecer que el juego de reactivos liofilizado es estable hasta los tres meses pudiéndose extender este plazo con posteriores pruebas.

## ANEXO 1

### PROSPECTO YODOFENIN — Tc99m

#### DIAGNOSTICO: HEPATOBILIAR

#### PRESENTACION

El producto Yodofenin se suministra en un estuche de 5 viales multidosis conteniendo cada uno:

— 3 yodo 2, 4, 6, trimetilfenilcarbamoilmetilimino diacético. . . . .	10.00mg
— Cloruro estañoso bihidratado . . . . .	0.38mg

#### DESCRIPCION

El Yodofenin es un producto suministrado en forma liofilizada, estéril y libre de pirógenos. El producto liofilizado es sellado al vacío y debe conservarse en refrigeración de 2 a 8 °C.

Al adicionarle el pertechnetato de sodio-Tc99m en solución salina, isotónica, estéril exenta de pirógenos y agentes oxidantes se forma el agente de imagen hepatobiliar yodofenin o yodotrimetil-IDA-Tc99m.

#### RADIOISOTOPO DE MARCACION

Radioisótopo	: Tecnecio 99m
Vida Media	: 6.03 h.
Emisión Principal	: Gamma de 140.5 Kev.

#### ACCIONES

El Tc99m-IODOFENIN luego de ser inyectado al paciente es captado por el hepatocito, concentrándose rápidamente en el hígado para luego excretarse por las vías biliares con poca eliminación renal.

#### INDICACIONES

- Evaluación de la función hepatobiliar.
- Diagnóstico centellográfico de la colecistitis aguda.
- Diagnóstico de las alteraciones del tracto biliar.

#### CONTRAINDICACIONES

Ninguna conocida.

#### CUIDADOS Y PRECAUCIONES

Los productos radiofarmacéuticos deben ser utilizados por personal calificado con entrenamiento específico en el uso y manipulación segura de radionúclidos. El Tc99m-Iodofenin no debe ser administrado a mujeres gestantes o que estén dando de lactar, ni a personas menores de 18 años, a menos que los beneficios superen los riesgos potenciales.

Idealmente los exámenes utilizando radiofarmacos en mujeres en edad de procrear deben ser realizados durante los 10 primeros días después de iniciada la menstruación.

El contenido de este producto no es radioactivo, sin embargo, cuando se le añade el pertechnetato de sodio-Tc99m, se debe mantener un adecuado blindaje de la preparación



final y apropiadas medidas de seguridad a fin de minimizar la exposición a las radiaciones, tanto a los pacientes como al personal que labora en el área.

#### **REACCIONES ADVERSAS**

No se han reportado reacciones adversas específicamente atribuibles al uso del Tc99m Iodofenin.

#### **DOSIS Y VIA DE ADMINISTRACION**

Cada vial contiene cantidad suficiente del producto para el trabajo con 3 pacientes, administrar por vía endovenosa de 3 a 8 mCi del producto marcado a paciente adulto, en caso de pacientes con elevada bilirrubina inyectar de 8 a 10 mCi del producto marcado.

#### **TECNICA DE MARCACION**

Debe mantenerse condiciones de asepsia durante todo el procedimiento.

1. Añadir al vial liofilizado de 1 a 4 ml de solución de pertecnetato de sodio Tc99m.
2. Agitar el frasco para su completa reconstitución y dejarlo reaccionar unos 10 minutos antes de su aplicación.
3. Utilizar el producto hasta 5 horas después de marcado.

REFERENCIAS:

- [1] W.C. KLNIGENSUNITH III, et al, *Radiology* 146: 181-184, January 1983.
- [2] A. VAN ASWEGEN et al, *Nucl. Med. Bio. Vol. 13 No. 5, p. 509-514, 1986.*
- [3] J. J. COUPAL et al, *Current applications in Radiopharmacology p. 132-138.*
- [4] E. CHIOTELLIS, A. VARVARIGON, "Comparison of Tc-99m-halogenated iminodiacetates in experimental animals".
- [5] ALDO E. A. MITTA. *Comunicación Personal CNEA. Av. Libertador 8250 1429 Bs. As. Argentina.*
- [6] A. E. A. MITTA, C.P. ARCIPRETE AND E.G. GROSS "An imprieved procedure for the synthesis of 3-bromo-2, 4, 6, trimethylphenylcarbamoylemethyliminodiacetic acid"
- [7] *MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD DE RADIOFARMACOS DE ALASBIMN, Montevideo, 1986.*

Marcación de yodotrimetil-ida con  $^{99m}\text{Tc}$  y desarrollo de juego de reactivos para centellografía hepatobiliar por Elizabeth Chacón, Ana Robles, Alfredo Díaz, Juan Quezada se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional.