

Síntesis y caracterización del dietilentriamino pentaacetato cálcico trisódico (DTPA - CaNa₃)

Anita Robles^{1,*}, Bertha Ramos¹, María Benites¹, Jorge Herrera¹, José Caballero¹, Aldo Guzmán²

¹Planta de Producción de Radioisótopos, Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN),
Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

²Facultad de Química e Ingeniería Química. Universidad Nacional Mayor de San Marcos,
Av. Venezuela s/n

Resumen

El presente trabajo tiene por objetivo la síntesis y caracterización de la sal dietilentriamino pentaacetato cálcico trisódico (DTPA - CaNa₃), mediante el método de Rubin-Dexter, el cual se ha desarrollado en dos etapas: primero por una reacción equimolar del ácido dietilentriamino pentacético (DTPA) con CaCO₃ obteniendo el DTPA-Ca y la segunda por reacción de neutralización con NaOH por medio de la titulación potenciométrica, con la formación posterior de la sal DTPA-CaNa₃ a un pH de 11.62. El rendimiento global de la síntesis fue del 99 %. El producto obtenido se caracterizó por espectroscopia infrarroja y por la técnica del análisis por activación neutrónica – método de ksubcero (K₀) se midió la concentración de los elementos Ca y Na, 14.50 % y 8.06 % respectivamente. El ensayo de toxicidad aguda demuestra que el producto sintetizado no es tóxico y que puede ser utilizado como precursor del radiofármaco ^{99m}Tc - DTPA para estudios cerebrales y renales.

Abstract

The aim of this work is the synthesis and characterization of diethylene triamine pentaacetic acid calcium trisodium salt (DTPA - CaNa₃) by the method of Rubin - Dexter, which was developed in two steps: first by an equimolar reaction of diethylenetriamine pentaacetic acid (DTPA) with CaCO₃ getting DTPA - Ca and the second by neutralization reaction with NaOH by potentiometric titration, with the subsequent formation of the DTPA - CaNa₃ salt to a pH of 11.62. The overall yield of the synthesis was 99%. The product obtained was characterized by infrared spectroscopy and the technique of neutron activation analysis - ksubcero (K₀) method it measures the concentration of Ca and Na that they were 14.50 % and 8.06 % respectively. The acute toxicity test shows that the synthesized product is not toxic and can be used as precursor of the radiopharmaceutical ^{99m}Tc - DTPA for studies of the brain and the kidney.

1. Introducción

El ácido dietilentriamino pentacético (DTPA) es conocido, desde 1945, como agente quelante para el hierro. Es un ácido poliamínico similar, en estructura, al EDTA pero con mayor afinidad para los metales más pesados y tierras raras [1], también se une rápidamente al calcio y al cobre formando complejos con una constante disociación muy baja. Por procedimientos potenciométricos y por determinaciones del espectro infrarrojo se ha podido conocer la estructura de esta

molécula. Tiene cinco grupos etanóicos y se pueden encontrar las diferentes etapas de ionización a diferentes pH. La molécula no ionizada es muy poco soluble en agua (100 mg 120 ml de H₂O a 65 °C) y se puede representar como H₅Z.

En la Tabla 1, tomada del trabajo de Nakamoto [2], se enlistan los valores para las constantes ionización pK para llegar a la ionización completa Z⁻⁵ que se encuentra a pH 11.6.

Tabla 1. Valores para las constantes de ionización del DTPA (H₅Z).

	pK ₁		pK ₂		pK ₃		pK ₄		pK ₅	
H ₅ Z	↔	H ₄ Z ⁻	↔	H ₃ Z ⁻²	↔	H ₂ Z ⁻³	↔	HZ ⁻⁴	↔	Z ⁻⁵
	1.79		2.56		4.42		8.76		10.42	

* Correspondencia autor: arobles@ipen.gob.pe

En solución acuosa la especie del anión divalente H_3Z^{2-} se encuentra a pH 3,6 y el anión trivalente a pH 6,8 [2].

En medicina nuclear se utiliza dietilentriamino pentaacetato cálcico trisódico (DTPA - $CaNa_3$) como precursor del radiofármaco ^{99m}Tc - DTPA para estudios cerebrales y renales [3]. La molécula del complejo con ^{99m}Tc reducido por Sn^{+2} , es un anión de dos cargas, tanto a pH 4,6 como pH 7,0 [4] por lo que se representa como $[^{99m}Tc - DTPA]^{2-}$.

En la formación del complejo $[^{99m}Tc-DTPA]^{2-}$ intervienen 6 de los 8 puntos de coordinación, por tanto estos grupos carboxilados libres pueden ser sustituidos por grupos alquílicos, ésteres o amidas sin afectar la estabilidad del complejo, originando un complejo neutro y lipofílico con propiedades radiofarmacéuticas diferentes a las del complejo inicial [5].

El presente trabajo tiene por objetivo la síntesis y caracterización del dietilentriamino pentaacetato cálcico trisódico (DTPA- $CaNa_3$), obtenida primero por una reacción equimolar del DTPA con $CaCO_3$ y la segunda

por reacción de neutralización con NaOH por medio de la titulación potenciométrica.

2. Metodología

La síntesis del dietilentriamino pentaacetato cálcico trisódico (DTPA- $CaNa_3$) se realiza por el método de Rubin-Dexter [6], el cual se desarrolla en dos etapas:

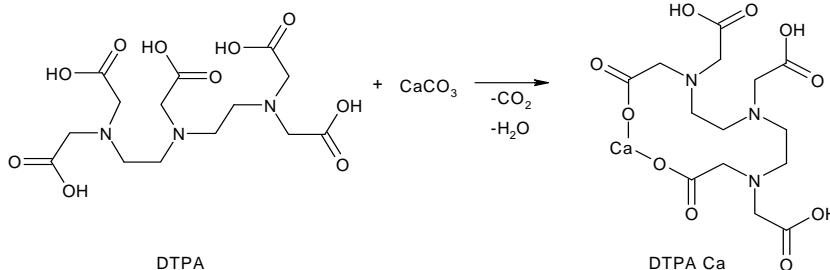
- Síntesis del ácido dietilentriamino triacético diacetato de calcio (DTPA Ca).
- Síntesis del dietilentriamino pentaacetato cálcico trisódico (DTPA $CaNa_3$).

2.1 Síntesis del ácido dietilentriamino triacético diacetato de calcio (DTPA Ca)

2.1.1 Materiales, equipos y reactivos

El material de vidrio que se utilizó: beaker, fioles, embudo, matraz erlenmeyer y otros como papel de filtro No 1. También se utilizó un equipo termoagitador y como reactivos el ácido dietilentriaminopenta-acético marca SIGMA-ALDRICH y carbonato de sodio marca EMSURE.

2.1.2 Reacción química



2.1.3 Procedimiento

- En un beaker de 800 mL provisto de un agitador magnético, se vertió 48,9351 g de DTPA (0,1244 moles) y 350 mL de agua destilada, incrementando suavemente la temperatura de la solución hasta mantenerla en un rango entre $55\text{ }^\circ\text{C} \pm 3\text{ }^\circ\text{C}$ y bajo agitación constante.
- Luego, se adicionó lentamente 12,4549 g de $CaCO_3$ (0,1244 moles), observándose el desprendimiento de $\uparrow CO_2$ y se dejó enfriar.
- Enseguida se filtró la solución por gravedad a través de filtro N° 1 hacia un matraz erlenmeyer, dejando el filtrado transparente en

refrigeración por 20 h.

2.2 Síntesis del Dietilentriamin Pentaacétato Calcico Trisódico (DTPA $CaNa_3$)

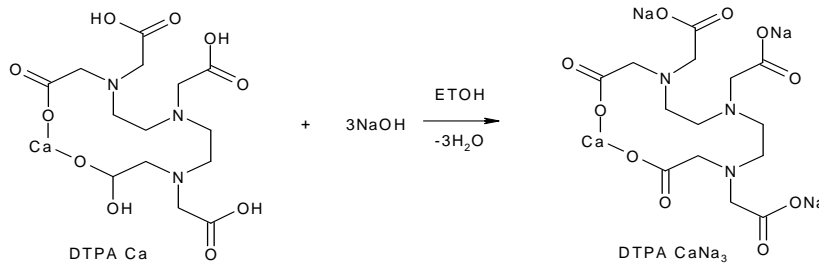
La determinación de los pH de disociación del DTPA Ca (H_3Z^{2-}) se realizó mediante la titulación potenciométrica del DTPA Ca con NaOH, con el objetivo de encontrar los tres pH experimentales para las ionizaciones completas del H_3Z^{2-} al Z^{5-} .

2.2.1 Materiales, equipos y reactivos

El material de vidrio que se utilizó: beaker, bureta, fiolas, embudo, matraz erlenmeyer y otros como papel de filtro N° 42. Equipamiento utilizado: termoagitador, un pHmetro con electrodo de vidrio sensitivo a la concentración de ion hidronio en solución, estufa, rotavapor marca BUCHI,

espectrómetro NICOLET 6700 THERMO FISHER con accesorio ATR SMART iTR ZnSe. Reactivos empleados: Intermediario 1 (DTPA Ca), hidróxido de sodio 4N, etanol absoluto y suero fisiológico estéril y apirógeno.

2.2.2 Reacción química



2.2.3 Procedimiento

- El filtrado del DTPA Ca obtenido mediante el procedimiento descrito en el ítem 2.1.3 se llevó a temperatura ambiente y se neutralizó por medio de una titulación potenciométrica (pHmétrica) hasta alcanzar un pH final de 11.60 con un volumen de 92.50 mL de NaOH 4N.

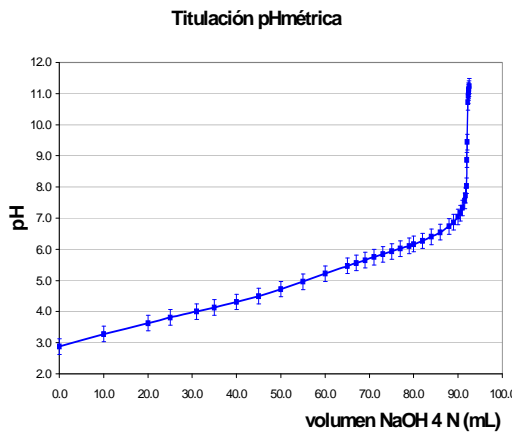


Figura 1. PH en función del volumen de NaOH 4N.

Titulación pHmétrica

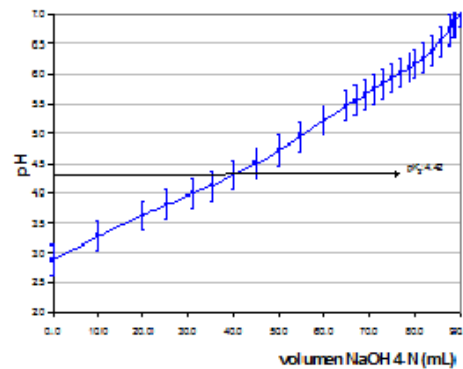


Figura 2. DTPA Ca versus volumen de NaOH 4N, Primera neutralización.

Titulación pHmétrica

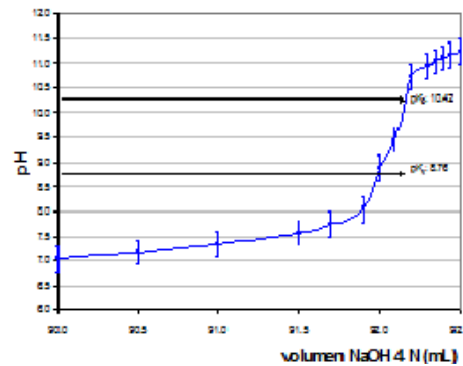


Figura 3. DTPA Ca versus volumen de NaOH 4N, Segunda y Tercera neutralización.

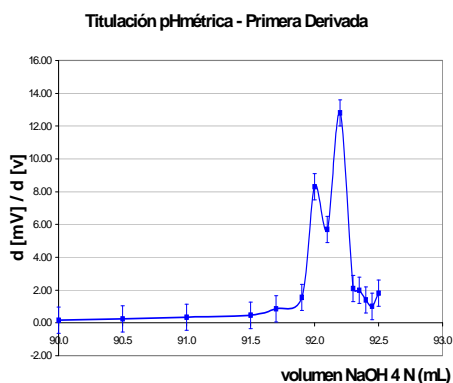


Figura 4. Curva de la primera derivada para el segundo y tercer punto de equivalencia.

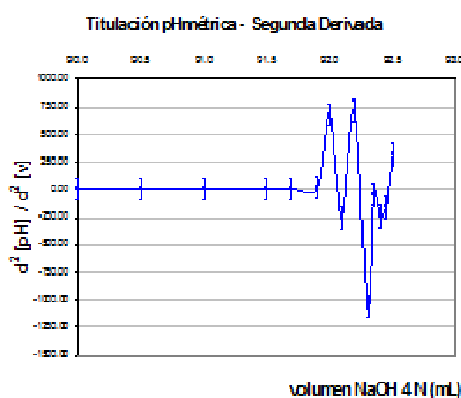


Figura 5. Curva de la segunda derivada para el segundo y tercer punto de equivalencia.

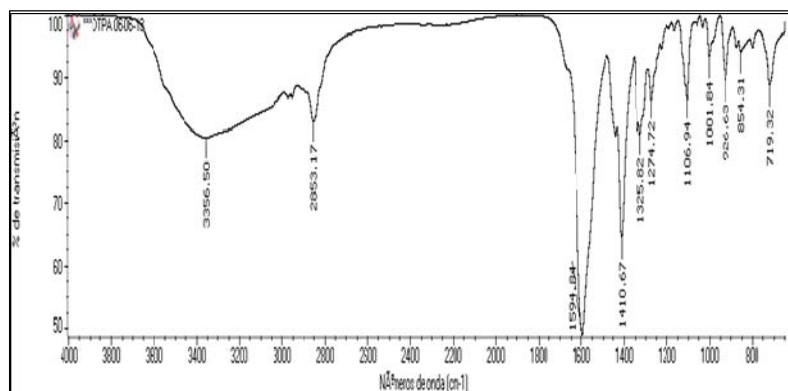


Figura 6. Espectro Infrarrojo FT-IR del DTPA Ca Na₃. Barrido de longitud de onda comprendido entre 4000 a 700 cm⁻¹.

2.2.4 Análisis cuantitativo elemental por AAN

Una fracción de la sal DTPA-CaNa₃ fue analizada por la técnica del Análisis por Activación Neutrónica (AAN) – Método de

- Posteriormente se rotaevaporó la solución bajo línea de vacío, reduciendo su volumen hasta alcanzar una solución densa, dejar enfriar a temperatura de ambiente.
- Adicionar 440 mL de etanol y refrigerar por 24 horas.
- Filtrar y secar entre 65 a 80 °C el precipitado por 24 horas, luego secar a 110 °C hasta peso constante.
- El producto obtenido fue un polvo blanco de 61.264 g.

3.2.4 Identificación por espectroscopia infrarroja

Una fracción de la sal DTPA - CaNa₃ se seca a 110 °C por 4 horas, luego se analiza por espectroscopia infrarroja, el espectro de absorción obtenido se contrasta con el espectro patrón [7] donde se muestra los grupos funcionales característicos del producto cerca a las siguientes longitudes de onda: 3600 y 2700 cm⁻¹ (OH); 2850 – 3000 cm⁻¹ (-CH₂-); 1650-1550 cm⁻¹ (-COO-acoplado al Ar-N-R₂); 1400 cm⁻¹ (-COO-acoplado con Ar-N-R₂ del grupo amina terciaria); 1250 cm⁻¹ (-COO-, acetato); 1100 cm⁻¹(Ar-N-R₂); 950 cm⁻¹ (C=O) y 725 cm⁻¹ (-CH₂-, consecutivos).

ksubcero (K₀) para determinar la concentración de los elementos Ca y Na presentes en el producto.

2.2.5 Ensayo de toxicidad aguda

Se inyecta 0,1 ml de una solución de DTPA-

CaNa₃ a un total de 6 ratones, con un promedio de peso de 30 g, la dosis inyectada equivale a 500 veces más que la administrada a humanos. Adicionalmente se inyecta 0.1 ml de suero fisiológico estéril y apirógeno a 2 ratones. La evaluación se realizó inmediatamente después de la inyección, a las 24 horas, y durante 7 días post - inyección. Durante el período de evaluación no se presentaron reacciones adversas ni de mortandad en ninguno de los animales, considerando al ensayo de toxicidad aguda: Negativo.

La solubilidad del DTPA-CaNa₃ para la prueba de toxicidad se realiza disolviendo 20 mg de la sal con 2 ml de suero fisiológico estéril y apirógeno.

3. Resultados y Discusiones

- En las figuras del 1 al 5 se presentan las curvas de titulación potenciométrica (pHmétrica) del DTPA Ca vs. volumen de NaOH 4N, se observan que esta molécula H₃Z²⁻ presenta tres neutralizaciones finales (pK₃=4.42, pK₄=8.76, pK₅=10.42), siendo los dos últimos cambios más notorios en los gráficos $\delta\text{pH}/\delta\text{V}$ y $\delta^2\text{pH}/\delta^2\text{V}$ para los volúmenes de 92.0 y 92.2 ml del titulante, en comparación al primer cambio, debido a la concentración alta del NaOH.
- Para garantizar una completa neutralización del DTPA Ca se llevó hasta pH 11,62 con 94.7 ml de NaOH 4N, obteniéndose la sal DTPA CaNa₃.
- El rendimiento total de la síntesis fue de 99 % (61.264 g).
- El análisis FT-IR muestra las dos bandas características 1650cm⁻¹-1500 cm⁻¹ y 1400cm⁻¹ correspondientes a las tensiones –COO- de la sal de acetato. La presencia de una banda ancha 3600-2700 cm⁻¹ de las tensiones O-H (ligado) y puentes de hidrógeno producto del H₂O asociado, confirma el grado de hidratación del producto.
- El análisis cuantitativo elemental de la sal dio como resultado 14.50 % de Na, siendo el teórico 13,87 % y para el Ca 8.2 %, siendo el teórico 8.06 %.

4. Conclusiones

- El procedimiento descrito permite sintetizar el dietilentriamino pentaacétato cálcico trisódico con una alta pureza química, obteniéndose 61.264 g.

- El método pHmétrico o potenciométrico permite garantizar el punto final de la neutralización completa del DTPA Ca, formado la sal DTPA CaNa₃ la cual se obtiene a pH 11,62.
- Al analizar el espectro FT-IR obtenido se puede decir que el producto sintetizado corresponde a la sal del DTPA Ca Na₃.
- La concentración de Ca y Na en la sal confirma que las ionizaciones se han completado del H₃Z²⁻ al Z⁻⁵.
- El ensayo de toxicidad aguda demostró que el producto es atóxico.

5. Agradecimientos

A los investigadores Pablo Mendoza, Patricia Bedregal, Paula Olivera, Emma Castro y Mónica Vivanco por el apoyo brindado en la identificación de la estructura y composición elemental del producto sintetizado en los laboratorios de la PPRR.

6. Referencias

- [1] Harder R, Chaberek S. The interaction of rare earth ions with diethylene triamine pentaacetic acid. *J. Inorg. Nucl. Chem.* 1959; 11:197-209.
- [2] Nakamoto K, Morimoto Y, *et al.* Infrared spectra of ethylene diamine tetraacetic acid. *J. Am. Chem. Soc.* 85: 309-314, 1963.
- [3] Hauser W, Atkins HL, *et al.* Technetium-99mDTPA: A new radiopharmaceutical for brain and kidney scanning. *Radiology.* 1970; 94(3):679-684.
- [4] Russell, C. D.; Crittenden, R.C.; Cash, A.G.: determination of net ionic charge on Tc-99mDTPA and Tc-99mEDTA by a column ion-exchange method *J. Nucl Med* 21; 354-360, 1980.
- [5] Arteaga de Murphy, Consuelo. El tecnecio en la medicina nuclear. Sociedad Mexicana de Medicina Nuclear. México D.F., 1989. p. 224-229.
- [6] Martin Dexter, Martin Rubin, inventors; Geigy Chem Corp., cesionario. Trisodium calcium diethylenetriamine-pentaacetic acid, compositions containing the same, and the use thereof. United States patent US 3062719.1962 Nov 6.
- [7] Diethylenetriaminepentaacetic acid calcium trisodium salt, hydrate [homepage en Internet]. Mar. 2012. Disponible en: <https://www.spectrumchemical.com>