

SÍNTESIS Y MARCACIÓN DE meta-iodobencilguanidina (m-IBG) CON I-131

Miranda J.⁽¹⁾ jmiranda@ipen.gob.pe, Herrera J.⁽¹⁾ jherrera@ipen.gob.pe,
Robles A.⁽¹⁾ arobles@ipen.gob.pe, Caballero J.⁽¹⁾ jcaballero@ipen.gob.pe, Ticona L.⁽²⁾

(1) Planta de Producción de Radioisótopos – IPEN / Lima, Perú

(2) Universidad Nacional Mayor de San Marcos / Lima, Perú

RESUMEN

La síntesis se lleva a cabo mediante la condensación de la m-iodobencilamina y con la formación posterior de la sal de hemisulfato. Se caracteriza e identifica la m-iodobencilguanidina m-IBG por espectroscopía IR y con la determinación del punto de fusión.

Los ensayos de toxicidad en ratones demuestran que el producto sintetizado no es tóxico. El método de marcación de la m-IBG con I-131 se realiza por intercambio isotópico nucleofílico, la reacción es catalizada con sulfato de cobre en presencia de sulfato de amonio a temperaturas entre 140 °C a 150 °C. Los ensayos de distribución biológica en ratas wistar, presentan un valor promedio de 1,54 % de la dosis inyectada por gramo de órgano en glándulas suprarrenales, estos valores son prometedores para la aplicación de este radiofármaco en el diagnóstico de tumores suprarrenales y en la obtención de imágenes de la médula adrenal, miocardio y glándulas salivales.

1. INTRODUCCIÓN

Los compuestos orgánicos que contienen iodo radiactivo, en la actualidad se utilizan en bioquímica, farmacología, toxicología y medicina nuclear. Entre ellos se encuentran las aralquilguanidinas, para obtener imágenes de la glándula suprarrenal.

Las aralquilguanidinas resultan de la combinación del radical bencil del berilio con el grupo guanidina de la guanetadina, ambos compuestos resultan ser potentes agentes neurobloqueantes con acción selectiva sobre las terminaciones adrenérgicas.

El iodo radiactivo puede colocarse en posición orto, meta y para, siendo el isómero meta el que posee mayor estabilidad, mayor afinidad por la médula suprarrenal y menor acumulación en el resto del organismo.

La estructura de la meta-iodobencilguanidina (m-IBG) es la que se presenta en la Figura 1.

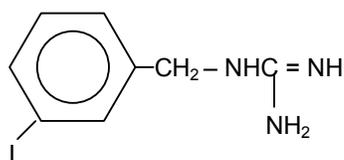


Figura 1. Meta-iodobencilguanidina (m-IBG).

El presente trabajo tiene como objetivos la síntesis de la sal de m-IBG y la marcación de la molécula con I-131. La síntesis del hemisulfato de m-IBG bajo la forma química de bicarbonato de m-IBG y la segunda se obtiene el hemisulfato de m-IBG por una reacción equivalente entre el primer intermediario y el ácido sulfúrico (Figura 2).

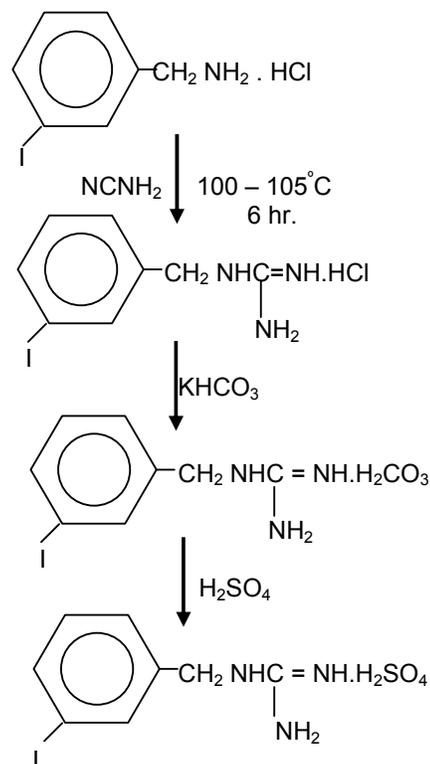


Figura 2. Esquema de la síntesis del hemisulfato de m-IBG.

La marcación con I-131 se efectúa por intercambio isotópico nucleofílico, la reacción es catalizada con sulfato de cobre en presencia de sulfato de amonio a una temperatura entre 140-155 °C. La reacción de intercambio isotópico que ocurre es la siguiente:



2. MATERIALES Y MÉTODOS

SÍNTESIS: La síntesis se basa en el método establecido por Wieland *et al.* [1], el cual se desarrolla en dos etapas:

La primera etapa, se inicia con la preparación del bicarbonato de m-IBG: En un balón de 50 ml, equipado con agitador magnético se coloca 556 mg (2 mmol) de clorhidrato de m-iodobencilamina y 127 mg (3 mmol) de cianamida; la mezcla se agita en baño de glicerina entre 100 °C a 105 °C por 6 horas, la reacción se controla por cromatografía en capa delgada. El sólido vítreo resultante se disuelve en 1 ml de agua destilada, luego se adiciona una solución de bicarbonato de potasio (200 mg de bicarbonato en 1 ml. de agua destilada), gota a gota con agitación constante. Se forma un precipitado blanco, el cual se filtra al vacío, se lava con agua fría y finalmente se seca al vacío.

La segunda etapa es la preparación de hemisulfato m-IBG: En un balón de 50 ml se disuelve 633 mg de bicarbonato de m-iodobencilguanidina en 4 ml de agua y se calienta entre 50 °C a 60 °C, con agitación constante. Se adiciona lentamente una solución de ácido sulfúrico 1 N, hasta que el pH de la mezcla reaccionante descienda de 8,4 a 4,0. Se forma un precipitado blanco, el cual se filtra, se lava con agua fría y finalmente se seca al vacío. El producto obtenido se purifica con etanol:agua (60:40)

Se verifica la estructura de los compuestos obtenidos mediante la determinación del punto de fusión y por espectroscopía infrarroja.

Ensayo de toxicidad aguda. Se inyecta 0,1 ml de una solución de hemisulfato de m-IBG disuelto en buffer acetato 0,005 M (pH 4,5), a un total de cinco ratones, con un promedio de peso de 25 g; la dosis inyectada equivale a 500 veces más que la administrada en humanos.

MARCACIÓN CON I-131

El método para la marcación de hemisulfato de m-IBG se basa en la técnica descrita por Almeida y col [3]. En un vial de 10 ml de capacidad limpio y estéril se coloca 4 mg de hemisulfato de m-IBG y 8 mg de sulfato de amonio, ambos se solubilizan con 0,3 ml de una solución de etanol:agua (1:1) y se adiciona una gota de solución de sulfato de cobre al 1 %; luego adicionar de 10 a 20 mCi de una solución de ¹³¹I Na en un volumen entre 100 a 150 μl, libre de portador y reductor, producido en la PPPR-IPEN. Se calienta en un baño de glicerina entre 140 °C a 155 °C por 30 minutos. Se enfría y reconstituye el producto marcado con 3 ml de buffer acetato 0,005 M (pH 4,5). Finalmente se filtra por Millipore de 0,22 μm.

CONTROL DE CALIDAD DE LA MARCACIÓN

Pureza radioquímica: Se realiza por cromatografía ascendente, mediante el sistema cromatográfico: soporte, papel whatman 3MM y como solvente , n-butanol: ácido acético: agua (5:2:1); siendo el Rf para el m-I¹³¹BG de 0,9 a 1,0 y para el Iodo 131 de 0,0 a 0,1.

Ensayo de toxicidad aguda: Se realiza de la misma manera que en el ensayo de toxicidad de la síntesis.

Ensayo de endotoxinas bacterianas: Para este ensayo se emplea el método in vitro Lisado de Amebocitos del Limulus (LAL) recomendado por la Farmacopea Americana Edición 23.

Distribución biológica: Las pruebas preliminares de distribución biológica de m-I¹³¹BG se realizan en ratas wistar, con peso promedio de 250 g, se les inyecta 100 μCi (en un volumen de 0,1 ml del producto marcado), se sacrifica al animal a la hora y el órgano crítico se retira al final (glándulas suprarrenales). Finalmente se determina el porcentaje de dosis de inyección por gramo (D.I. /g) por el método del estándar externo al 1 %.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis

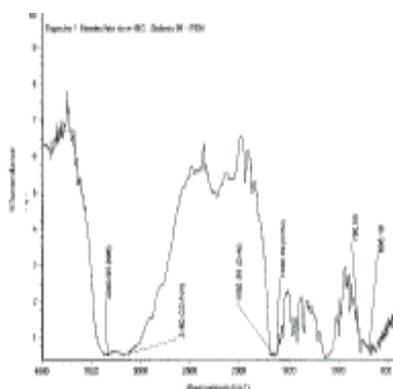
El punto de fusión que se obtiene en cada etapa se describen en la tabla 1, estos resultados son muy cercanos a los valores indicados en la literatura. El rendimiento alcanzado para la primera etapa es del 77 % y

para la segunda el 86 %, los cuales son óptimos. Siendo el rendimiento global del 80%.

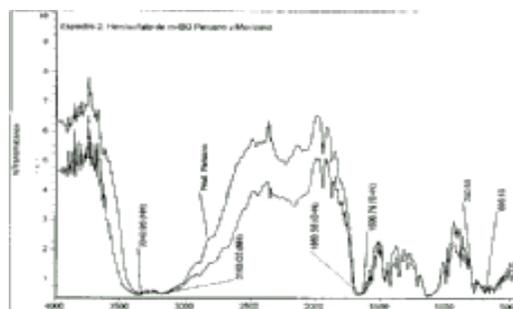
Tabla 1. Puntos de fusión de los productos obtenidos en la síntesis.

Producto	Teórico	Experimental
Bicarbonato de m-IBG	124-126 °C	123-125 °C
Hemisulfato de m-IBG	166-167 °C	166-167 °C

El análisis por espectroscopía infrarroja (I.R) del producto final muestran picos que son característicos de la molécula, las cuales son: 3340 cm⁻¹ (NH), 3160 cm⁻¹ (NH), 1660 y 1630 cm⁻¹ (C=N), 780 y 695 cm⁻¹ (benceno 1-3 disustituido) (Espectro 1).



El espectro del producto final se compara con un producto sintetizado en el ININ - México y ambos coinciden (Espectro 2).



El resultado de la toxicidad aguda demuestra que es un producto no tóxico.

Marcación

Se obtuvo la m-IBG marcada con I-131, con una pureza radioquímica superior al 99 % al primer día de marcación y mayor de 97 % al tercer día con un pH óptimo de 4,5. La actividad específica que se obtiene es de 2 a 5 mCi/mg de m-IBG y la concentración radiactiva es de 10 a 20 mCi/ml.

El rendimiento del proceso de marcación en función a la actividad inicial es del 96 %, la cual se considera óptima.

La estabilidad de la molécula marcada es mayor cuando se guarda en refrigeración (4 a 6 °C) y protegida de la luz.

Los resultados de los controles biológicos, demuestran que es un producto no tóxico, libre de endotoxinas bacterianas y con un porcentaje localización en órgano crítico del 1,54 ± 0,191 % D.I./g), el cual es óptimo para continuar con las evaluaciones clínicas.

4. CONCLUSIONES

La síntesis del hemisulfato de m-IBG se obtiene con una alta pureza química y con un rendimiento global del 80 %.

La marcación del hemisulfato de m-IBG con I-131 presenta una pureza radioquímica superior al 99 % el primer día de marcación.

La estabilidad del producto es de tres días, después de la marcación; siempre y cuando se conserve a temperatura de refrigeración y protegido de la luz.

Las concentraciones radiactivas bajas o menores de 5 mCi/ml y actividades específicas entre 2 a 5 mCi/mg de m-IBG, son óptimas para utilizarse como radiofármaco para radiodiagnóstico.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Wienland, D.M., et al. Radiolabeled adrenergic neuron blocking agents: Adrenomedullary imaging with ¹³¹I-iodobenzylguanidine - J Nucl. Med. 1980, 21: 349-353.
- [2] MITJAVILA, M; GONZALEZ, A; et al. "Posibilidades terapéuticas de la metayodobencilguanidina" Rev. Esp. Med Nuclear 1989;8.Supl.I:7-17.
- [3] Almeida Mat.; Barboza, M.F., et al. "The synthesis of ¹³¹I Metaiodobenzyl-guanidines" In; COX P.H.& TOUYA. E. Eds. News perspectives in Nuclear Medicine, Pt 2: instrumentation, laboratory investigation ADN in vitro studies. New York, Gordon & Breach, 1985, p. 81.
- [4] McEWAN, WYETH and DUNCAN ACKERY "Radioiodinated Iodobenzylguanidine for diagnosis and therapy". Appl. Radiat. Isot. 37(8), pp 765-775 (1986).
- [5] FERRO G., UREÑA N., LEZAMA J., GONZALES Z., AVILA R. "Síntesis, Marcaje y evaluación clínica de la ¹³¹I-Metayodobencilguanidina (¹³¹I-MIBG). Rev. Soc. Química México. 40(2) (1996).