

EVALUACIÓN RADIOQUÍMICA Y BIOLÓGICA DEL ^{153}Sm - EDTMP, COMPLEMENTADO CON ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

Robles A. arobles@ipen.gob.pe; Caballero J. icaballero@ipen.gob.pe;
Portilla A. aportilla@ipen.gob.pe

Planta de Producción de Radioisótopos - RAIS – IPEN / Lima, Perú

ABSTRACT

We have evaluated the radiochemistry purity of ^{153}Sm -EDTMP, in four different chromatography systems: water/ITLC-SG; ammonia/ITLC-SG; NH_3 : MEOH: H_2O (0.2:2.0:4.0)/whatman N° 3 and by chromatography in a packed mini-column with sephadex G25, being eluted with NaCl 0,9%. The four chromatography systems reported a major radiochemical purity of 99%, but in the ammoniacal – alcoholic system the resolution is poor; of the four systems is chosen the mini column to be a rapid and simple technique. For the biological evaluation we made biodistributions in healthy animals in different times: mice to 30 minutes; 1; 2; 3; 4 and 6 hours and in rats to the 3 and 24 hours post-injection; we determine that the ideal biological model is the rat, that the time of sacrifice is 3 hours post-injection and that the minimum percentage of dose injected to femur is 1%, for both. These evaluations were complemented with a study of stability on real time of the ^{153}Sm -EDTMP, storing between 2 to 8°C, having determined the radiochemical purity by mini-column for ten days, obtaining a stability until the 4 days with a major radiochemistry purity of 99%.

Keywords

Radiochemical Purity; EDTMP, Samarium 153, Biodistribution, Stability.

RESUMEN

Se evaluó La pureza radioquímica del ^{153}Sm -EDTMP, en cuatro sistemas cromatograficos diferentes: agua / ITLC-SG; amoniaco / ITLC-SG; NH_3 : MEOH: H_2O (0.2:2.0:4.0) / whatman N° 3 y por cromatografía en mini-columna empacada con sephadex G25, siendo eluida con NaCl 0,9%. Los cuatro sistemas cromatograficos reportaron una pureza radioquímica mayor del 99%, pero en el sistema amoniacal - alcohólico la resolución es pobre; de los cuatro sistemas se elige a la mini- columna por ser una técnica rápida y sencilla. Se realizo biodistribuciones con animales sanos a

diferentes tiempos: ratones a los 30 min.; 1; 2; 3; 4 y 6 horas y en ratas a las 3 y 24 horas post-inyección; se determino que el modelo biológico ideal es la rata, que el tiempo de sacrificio es de 3 horas post-inyección y que el porcentaje mínimo de dosis inyectada en fémur es del 1% para ambos. Estas evaluaciones fueron complementadas con un estudio de estabilidad a tiempo real del ^{153}Sm -EDTMP, almacenado entre 2 a 8°C, determinando la pureza radioquímica por mini-columna por un período de diez días, obteniendo una estabilidad hasta 4 días con una pureza radioquímica mayor del 99%.

Palabras Claves

Pureza Radioquímica; EDTMP, Samario 153, Biodistribución , Estabilidad.

1 INTRODUCCIÓN

El ácido etilen diamino tetrametilenfosfónico (EDTMP) marcado con samario-153, se desarrolló en la Universidad de Missouri en 1985 como radiofármaco terapéutico para aplicarse en el tratamiento paliativo del cáncer óseo. En vista de ello algunos países latinoamericanos empiezan a estandarizar la producción del radioisótopo samario-153, marcación del agente ligante, EDTMP y el control de calidad. En 1991, se aprueba un proyecto regional sobre producción y control de radiofármacos, RLA/2/007- ARCAL XV; organizado por el Organismo Internacional de Energía Atómica, a través de este proyecto se empieza a estandarizar la producción y control de este radiofármaco en nuestro país. A principios de 1995, se inicia los primeros ensayos para la producción de ^{153}Sm -EDTMP en los laboratorios de la Planta de Producción de Radioisótopos del Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN). El método de producción de este radiofármaco fue optimizado⁽¹⁾, el trióxido de samario irradiado (enriquecido al 99,6% ^{152}Sm) fue disuelto en medio ácido; la marcación ocurre en una relación molar de 8:1 (EDTMP:Samario) a temperatura ambiente. Este método produce un complejo estable con alta actividad específica, una pureza radionucleídica mayor del 99,90%

como samario-153 y una pureza radioquímica mayor del 99% a un pH de 7,5 a 8,0. En la literatura especializada^(1,2,4) se ha encontrado que existe diferentes métodos cromatograficos para determinar la pureza radioquímica, la distribución biológica se ha realizado en diferentes modelos biológicos (ratas y ratones) y el complejo formado es estable por varios días.

En este trabajo, se han comparado cuatro sistemas cromatograficos diferentes para determinar la pureza radioquímica del ¹⁵³Sm-EDTMP; se han realizado bio-distribuciones en ratas y ratones a diferentes tiempos para evaluar su comportamiento en cada modelo biológico. La estabilidad del complejo marcado, fue evaluada a tiempo real por varios días.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

• Análisis cromatográficos del ¹⁵³Sm-EDTMP

Las técnicas cromatográficas son nuevamente elegidas para la determinación de la pureza radioquímica de radiofármacos terapéuticos. Los sistemas cromatograficos empleados están en función del soporte empleado tales como cromatografía en papel (CP), cromatografía en capa fina instantánea (ITLC-SG) y cromatografía en columna (CC) donde está contenida la fase sólida, sephadex G-25. Los solventes elegidos se basan en la bibliografía consultada⁽¹⁾.

Se cuantificaron la pureza radioquímica del ¹⁵³Sm-EDTMP y las impurezas presentes, como el samario iónico (Sm +3) y el hidróxido de samario Sm(OH)₃; utilizando cuatro sistemas cromatograficos diferentes que se describen en la tabla 1.

Tabla 1. Comportamiento cromatográfico del ¹⁵³Sm-EDTMP en diferentes sistemas cromatograficos.

Soporte (*)	Solvente	Relación de frente (Rf)		
		¹⁵³ Sm-EDTMP	¹⁵³ Sm ⁺³	¹⁵³ Sm(OH) ₃
ITLC – SG	Agua destilada	0.8 – 1.0	0.0 – 0.1	0.0 – 0.1
ITLC – SG	Amoniac	0.8 – 1.0	0.0 – 0.1	0.0 – 0.1
Whatman # 3	NH ₃ :MEOH:H ₂ O (0.2:2.0:4.0)	0.7 – 1.0	0.0 – 0.1	0.0 – 0.1
Sephadex G 25(**)	NaCl 0.9%	Eluido	Columna	Columna

(*) tira 10 x 100 mm

(**) cromatografía en mini-columna (sistema cerrado), volumen mini-columna 5 mL.

• Estabilidad del ¹⁵³Sm-EDTMP

Como la pureza radioquímica puede variar con el tiempo, principalmente por descomposición radiactiva, se realizó un estudio de estabilidad a tres lotes experimentales almacenados entre 2 a 8 °C, por diez días. El método cromatográfico seleccionado para determinar la pureza radioquímica es por mini-columna conteniendo como adsorbente sephadex G-25 eluida con NaCl 0,9%.

• Biodistribución del ¹⁵³Sm-EDTMP

Los estudios de biodistribución, se realizaron en animales sanos como ratones CFW y ratas wistar, con un peso entre 25 a 30 g y 250 a 300 g., respectivamente. Se les administro 0,1 mL del radiofármaco terapéutico; los ratones fueron sacrificados a diferentes tiempos post-inyección: 0,5 ; 1; 2, 3 y 6 horas; las ratas a las 3 y 24 horas. Se extrajeron los órganos de interés y se midieron las actividades en un detector de 2" NaI(Tl), tipo pozo. Los porcentajes de dosis de inyección (D.I.) fueron calculados con el método del estándar externo. Posteriormente se realiza una comparación de la distribución biológica del ¹⁵³Sm-EDTMP en ratas y ratones, a las tres horas post-inyección.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

• Análisis cromatográficos del ¹⁵³Sm-EDTMP

Tabla 2. Porcentaje de pureza radioquímica del ¹⁵³Sm-EDTMP en diferentes sistemas cromatográficos.

N° Lote exp.	Agua / ITLC-SG	Amoniac o/ ITLC-SG	NH ₃ :MEOH: H ₂ O/ whatman N°3	NaCl 0,9% / Sephadex
01	99,58 ± 0,12	99,81 ± 0,11	99,12 ± 0,08	99,80 ± 0,16
	99,33 ± 0,09	99,64 ± 0,12	99,27 ± 0,13	99,67 ± 0,21
03	99,45 ± 0,10	99,62 ± 0,18	99,17 ± 0,11	99,58 ± 0,09

(n=2)

En los cuatro sistemas cromatográficos, se obtuvo una pureza radioquímica mayor del 99 %, pero en el sistema amoniacal-alcohólico la resolución es pobre debido a que presenta arrastre a lo largo del soporte, los tres restantes son óptimos para determinar la pureza radioquímica.

- **Estabilidad del complejo del $^{153}\text{Sm-EDTMP}$**

Tabla 3. Estabilidad del $^{153}\text{Sm-EDTMP}$.

N° Lote Exp.	Porcentaje de pureza radioquímica versus tiempo post-marcación					
	30 min.	1 día	2 días	4 días	8 días	10 días
04	99,80	99,60	99,45	99,15	93,22	83,40
05	99,81	99,73	99,62	99,17	98,88	93,98
06	99,76	99,58	99,54	99,22	98,91	96,52

Todos los lotes registraron valores superiores al 99% a los 30 minutos, este porcentaje se mantiene hasta el cuarto día, a los ocho días la pureza radioquímica es menor del 99 % en los tres lotes.

- **Biodistribución del $^{153}\text{Sm-EDTMP}$**

Tabla 4. Porcentaje D. I. / Org. del $^{153}\text{Sm-EDTMP}$, en ratones.

Órgano	Tiempo de sacrificio, post-inyección				
	30 min.	1 hora	2 horas	3 horas	6 horas
Sangre	0,10 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,06 ± 0,03
Hígado	0,16 ± 0,08	0,33 ± 0,10	1,28 ± 0,27	0,50 ± 0,25	0,74 ± 0,32
Riñones	0,21 ± 0,07	0,42 ± 0,15	0,29 ± 0,08	0,26 ± 0,01	0,21 ± 0,02
Estómago	0,03 ± 0,01	0,25 ± 0,03	0,15 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,01
Intestino	0,24 ± 0,06	0,66 ± 0,11	1,03 ± 0,25	0,37 ± 0,13	0,44 ± 0,12
Fémur	0,71 ± 0,16	1,30 ± 0,12	1,22 ± 0,08	1,42 ± 0,23	1,37 ± 0,14

(3 lotes, n=3 animales)

En la biodistribución del $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ en ratones a diferentes tiempos post-inyección, se observa que a partir de los 30 minutos hay fijación ósea, pero es significativa a la hora, a las tres horas se alcanza un máximo valor de D.I y se mantiene constante hasta las 6 horas. En el hígado se aprecia una concentración máxima del 1,28% a las 2 horas y decrece hasta 0,74% a las 6 horas, en el resto de órganos los valores de D.I/org. son menores a 1% a las 3 horas.

En la Tabla 5, la biodistribución en ratas a las 3 y 24 horas, confirman una fijación ósea del radiofármaco hasta por 24 horas; el complejo no fijado en el tejido óseo se

elimina durante las primeras 24 horas, vía excreción renal. En el hígado se aprecia una concentración máxima del 1,31% a las 3 horas, en el resto de órganos los valores de D.I/org. son menores al 2% a las 24 horas.

Tabla 5. Porcentaje D.I. /Org del $^{153}\text{Sm-EDTMP}$, En ratas

Órgano	Tiempo de sacrificio, post-inyección	
	3 horas	24 horas
Sangre	2,52 ± 0,15	0,02 ± 0,01
Hígado	1,31 ± 0,16	1,32 ± 0,12
Riñones	2,28 ± 0,25	1,08 ± 0,20
Estómago	0,27 ± 0,08	0,03 ± 0,01
Intestino	1,58 ± 0,21	0,17 ± 0,05
Fémur	2,41 ± 0,20	2,14 ± 0,11

(3 lotes, n=3 animales)

La tabla 4 y 5, permite evaluar el comportamiento del $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ en ratas y ratones, a las tres horas post-inyección. Se aprecia que la depuración corporal en ratones es más rápida que en ratas, la fijación ósea en fémur es mayor del 1% de la dosis inyectada, para ambos modelos biológicos.

4 CONCLUSIONES

En los cuatro sistemas cromatográficos, se obtuvo una pureza radioquímica mayor del 99 %, pero en el sistema amoniacal-alcohólico la resolución es pobre, los tres restantes son óptimos para determinar la pureza radioquímica.

Para controles de salida y estudios de estabilidad se elige la cromatografía por mini-columna por lo rápido y fácil del ensayo. La estabilidad del $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ es hasta 4 días almacenada entre 2 a 8°C, alcanzando una pureza radioquímica mayor del 99%.

En la biodistribución del $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ en ratones y ratas, se aprecia que la fijación ósea es mayor en ratas y que la depuración corporal en ratones es más rápida que en ratas. Se determina que las ratas wistar representa el modelo biológico ideal y que el tiempo óptimo de sacrificio es de tres horas post-inyección del radiofármaco.

5 REFERENCIAS

- [1] IAEA. Summary Report. Research Co-ordination Meeting. Optimization of the production and quality control of radiotherapeutic radionuclides and radiopharmaceuticals. Australia; October 1994. p.17-19.
- [2] Goeckeler WF, Edwards B, Volkert WA, et.al. Skeletal localization of Sm-153 chelates: Potencial therapeutic bone agents. J. Nucl Med. 1987; 28: 495-504.
- [3] Farhang M, Holmes R, Volkert N, et. al. Samarium-153-EDTMP: Pharmacokinetic, toxicity and pain response using an escalating dose shedule in treatment of metastatic bone cancer. J. Nucl Med. 1992; 33: 1451-1458.
- [4] Ketrin A. 153Sm-EDTMP and 188Re-HEDP as bone therapeutic radiopharmaceutical. Nucl. Med. Biol. 1987; 14: 223-232.