

OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE MARCAÇÃO DO ÁCIDO 15-p-iodo fenil pentadecanóico com $^{123/131}\text{I}$ E SUA AVALIAÇÃO FARMACOCINÉTICA

Ione Caselato Oliveira, Maria Tereza Colturato, Elaine Bortoleti de Araujo, Emiko Muramoto, Marycel Figols de Barbosa, Nilda Petrona Sosa de Pereira, Constância Pagano Gonçalves da Silva e Maria Aparecida T. M. de Almeida.

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares-CNEN / SP
Caixa Postal 11049
05422-970, São Paulo / Brasil

RESUMO

O ácido 15-p-iodo fenil pentadecanóico (IPPA) marcado com ^{123}I se constitui num importante radiofármaco de uso em cardiologia, quer seja pelas características físicas favoráveis deste radionuclídeo, quer pela estabilidade de marcação. O método de marcação estudado para obtenção do IPPA- $^{131/123}\text{I}$ foi de acordo com os procedimentos descritos por Dougan e col. A otimização das condições de marcação e estabilidade do produto foram avaliadas por controles radioquímicos e o estudo de distribuição biológica utilizando modelos animais.

INTRODUÇÃO

O progresso e desenvolvimento na obtenção de imagens cintilográficas do miocárdio tem sido incrementados nos últimos anos, procurando-se continuamente radiofármacos com características adequadas e economicamente viáveis para a detecção de cardiopatias.

Sob condições normais e no repouso, 90% da demanda de energia é fornecida pela utilização de ácidos graxos.

O ácido 15-p-iodo fenil pentadecanóico (IPPA) marcado com ^{123}I se constitui num importante radiofármaco de uso em cardiologia [1], quer seja pelas características físicas favoráveis deste radionuclídeo, quer pela estabilidade de marcação.

O IPPA é degradado a ácido p- ^{123}I -benzóico o qual é rapidamente excretado via renal, mostrando ter um comportamento semelhante ao ácido ^{123}I -hipúrico[2].

Na marcação de ácidos graxos com radioiodo o método de escolha é o mecanismo de substituição nucleofílica.

Dougan e col.[3], utilizaram metodologia de troca isotópica na presença de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e ácido ascórbico à uma temperatura de 107°C por 60 minutos, obtendo um rendimento total de marcação de 80-90% e uma pureza radioquímica superior a 98%.

Os sais de cobre (Cu^{+2}) tem sido amplamente utilizados como catalizadores deste tipo de reação de troca. O papel do cobre tem sido estudado utilizando-se sais de Cu(II) na presença de excesso de agente redutor como o ácido ascórbico, cloreto estanoso, a fim de produzir Cu(I), permitindo a formação de um complexo intermediário Aromático-Cu-Iodo que facilita a troca isotópica nucleofílica[4].

Alguns estudos realizados comparando ^{123}I -IPPA com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI(metoxi isobutil isonitrila) e ^{201}Tl , concluíram que o IPPA tem uma sensibilidade similar ou melhor que $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI na detecção de doenças artério coronária, e o paciente pode receber dose menor que a de ^{201}Tl . Além disso, o IPPA possibilita a realização da avaliação cardíaca em pacientes incapazes de realizar o teste de esforço[5].

A elaboração de substâncias marcadas para utilização clínica, envolve além dos estudos de otimização das condições de marcação e estabilidade do produto *in vitro*, o estudo de distribuição biológica utilizando modelos animais.

MATERIAS E MÉTODOS

O sal IPPA utilizado foi da EMKA-CHEMIE, o ^{131}I produzido em reator, proveniente do Canadá, livre de carregador e redutor; o ^{123}I é produzido no ciclotron do IPEN.

A marcação foi baseada no trabalho de Dougan e col.[3] que consiste em : preparar a solução de IPPA, 4,0 mg IPPA/ml de TDP (Tween 80 10%, Dextrose 80% e 1,2 Propanodiol 10%); aquecer à 100°C por 2-3 minutos e agitar por 5-10 minutos. Tomar 300µl desta solução e colocar em um frasco separado para reação; à solução de IPPA adicionar, 3µl de CuSO₄.5H₂O, 10mg de ácido ascórbico e 30µl de Na ^{123/131}I 37-370MBq (1-10mCi). Nitrogenar por 10 minutos. Aquecer à 107°C por 60 minutos. Recuperar em 2-4ml de solução injetável composta de álcool etílico, Tween 80 e solução fisiológica.

O controle da pureza radioquímica é realizado por cromatografia ascendente em papel Whatman 3MM (15×1 cm) em dioxano: clorofórmio: ácido acético glacial (50:49:1).

A otimização dos parâmetros de marcação foi realizada para analisar a forma física do ácido ascórbico; a temperatura de reação; o tempo de reação; a massa do ácido ascórbico e a massa de CuSO₄.5H₂O.

Os estudos de distribuição biológica foram realizados em ratos da raça Wistar, pesando em média 200g, anestesiados com uretana (100mg/100g peso). Os animais foram sacrificados aos 30 segundos, 2, 5, 10, 30 e 60 minutos após administração endovenosa do traçador 1,85 - 2,22 MBq (50-60µCi/0,1ml), os órgãos de interesse foram removidos, lavados, pesados e a radioatividade determinada em contador gama, os resultados foram expressos em % dose/órgão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variação da pureza radioquímica em relação ao ácido ascórbico quando utilizado na forma de cristal e em solução pode ser vista na tabela 1.

TABELA 1. Forma do ácido ascórbico

ÁCIDO ASCÓRBICO (10mg)	PUREZA RADIOQUÍMICA (%)
CRISTAL	89 ± 3.03
SOLUÇÃO	96 ± 0.0

Com relação a otimização das condições de marcação podemos concluir que a dissolução prévia do ácido ascórbico apresentou melhores resultados uma vez que possibilita a introdução da massa exata do ácido ascórbico não havendo perdas.

Na tabela 2, observamos a variação da pureza radioquímica em relação à temperatura de reação.

A temperatura de reação é um parâmetro importante nas reações com iodo. Foram avaliados vários pontos como já mencionado, sendo o melhor resultado obtido em 107°C, como descrita na literatura.

TABELA 2. Temperatura de reação

TEMPERATURA (°C)	PUREZA RADIOQUÍMICA (%)
200	85,75 ± 2.18
170	85,50 ± 1.30
150	86,00 ± 2.31
120	89,42 ± 1.16
107	96,00 ± 0.86
85	1,40 ± 0.54

Observamos na tabela 3 a variação da pureza radioquímica em relação aos vários tempo de reação.

TABELA 3. Tempo de reação

TEMPO (minuto)	PUREZA RADIOQUÍMICA(%)
60	96,00 ± 0.87
45	92,00 ± 1.80
30	92,60 ± 0.74
20	87,56 ± 2.74

Nas marcações com ¹²³I o tempo de reação é muito importante devido ao tempo de meia vida curto deste radioisótopo. Observando os resultados obtidos entre 30 e 60 minutos, optamos por 30 minutos uma vez que não se observou um incremento significativo no rendimento de marcação ao utilizar-se o dobro do tempo. Além disto, outros parâmetros a serem analisados deverão melhorar a pureza radioquímica do radiofármaco para este tempo.

Variando-se a massa do ácido ascórbico podemos analisar na tabela 4 os resultados obtidos.

TABELA 4. Massa do ácido ascórbico

MASSA DO ÁC. ASCÓRBICO (mg)	PUREZA RADIOQUÍMICA (%)
15	*
10	92,62 ± 1.06
7	91,37 ± 1.68
5	91,89 ± 1.17
2	94,50 ± 0.72

* Não houve dissolução do sal.

O ácido ascórbico atua como agente redutor da reação. Analisando-se os vários pontos, observou-se que a massa de 2 mg foi suficiente para a obtenção de bons rendimentos de marcação e também pelo tempo menor utilizado na preparação desta concentração da solução.

A tabela abaixo mostra a variação da pureza radioquímica em relação a massa de cobre.

TABELA 5. Massa do sulfato de cobre

MASSA DO COBRE (μg)	PUREZA RADIOQUÍMICA(%)
100	$95,87 \pm 1,24$
150	$94,50 \pm 1,50$
200	$93,86 \pm 1,05$

Os resultados obtidos utilizando-se de $100\mu\text{g}$ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ como catalisador da reação, foram satisfatórios, sendo inclusive melhores que os resultados apresentados em literatura. A redução da massa de Cu é muito importante especialmente se considerarmos sua toxicidade.

Na tabela 6 podemos observar os resultados obtidos na distribuição biológica.

Com os resultados preliminares obtidos na distribuição biológica podemos concluir que o radiofármaco apresenta boa captação no músculo cardíaco.

TABELA 6. Distribuição biológica

ÓRGÃOS	PORCENTAGEM DE DOSE POR ÓRGÃO					
	0,5 MINUTOS	2 MINUTOS	5 MINUTOS	10 MINUTOS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
CORAÇÃO	1.80 ± 0.44	2.36 ± 0.23	1.34 ± 0.18	1.12 ± 0.08	0.44 ± 0.15	0.42 ± 0.11
PULMÃO	2.24 ± 0.61	1.81 ± 0.50	1.74 ± 0.44	1.30 ± 0.10	0.72 ± 0.25	0.64 ± 0.25
FÍGADO	12.69 ± 5.42	19.72 ± 2.21	10.41 ± 1.00	10.04 ± 0.79	9.74 ± 1.25	6.62 ± 1.36
RINS	2.68 ± 0.44	2.61 ± 0.39	1.91 ± 0.24	2.07 ± 0.25	1.63 ± 0.41	1.85 ± 0.67
BAÇO	0.25 ± 0.25	0.32 ± 0.08	0.35 ± 0.07	0.31 ± 0.11	0.23 ± 0.06	0.18 ± 0.03
ESTÔMAGO	0.47 ± 0.16	0.51 ± 0.12	0.69 ± 0.05	0.96 ± 0.07	0.91 ± 0.20	0.93 ± 0.34
TIREÓIDE	0.04 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.13 ± 0.08	0.28 ± 0.41	0.06 ± 0.01
PLASMA	0.55 ± 0.09	2.22 ± 0.34	0.31 ± 0.06	0.27 ± 0.05	1.41 ± 0.19	1.10 ± 0.53
SANGUE	2.26 ± 0.51	1.39 ± 0.27	1.38 ± 0.21	1.25 ± 0.11	0.73 ± 0.13	0.66 ± 0.13

* n = 4

A captação na glândula tireóide foi reduzida, indicando a estabilidade do composto marcado *in vivo*. O rápido clareamento sanguíneo também contribuiria para resolução de imagens cintilográficas. Outros experimentos serão necessários para melhor entendimento do seu comportamento *in vivo* e para elaboração do modelo farmacocinético de distribuição.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pelo apoio através de bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] MACHULLA, A.; MARSMANN, M.; DUTSCHKA, K. Biochemical concept and synthesis of a radioiodinated Phenylfatty acid for *in vivo* metabolic studies of the miocardium. *Eur. J. Nucl. Med.* 5, 171-173, 1980.
- [2] MACHULLA, H.-J.; KNUST, E.J.; VYSKA, K. Radioiodinated Fatty Acids for Cardiological Diagnosis. *Appl. Radiat. Isot.* 37(8), 777-788, 1986.

[3] DOUGAN, H.; LYSTEEER, D.; VICENT, J. Efficient production of w-p- ^{123}I iodophenyl pentadecanoic acid. *Appl. Radiat. Isot. Parte A* 37(8), 919-921, 1986.

[4] GODOY, N.; REVECO, P.; GIL, M.C. Síntesis de marcacion y biodistribucion de N-Isopropil ^{131}I -p-Iodoanfetamina. *Comission Chilena de Energia Nuclear*, abril 1986.

[5] KNAPP, Jr.; KROPP J. Iodine-123-labelled fatty acids for myocardial single-photon emission tomography: current status and future perspectives. *Eur. J. Nucl. Med.* 22, 361-381, 1995.

ABSTRACT

The 15-p-iodo-phenyl pentadecanoic acid (IPPA) labelled with ^{123}I is an important radiopharmaceutical for use in cardiology, due to its favorable physical characteristics and its labelling stability. The labelling procedure studied for the preparation of IPPA- $^{123/131}\text{I}$ was according to the procedures described by Dougan et col.. The optimization of the labelling condition and product stability were evaluated by radiochemical controls and by biological distribution study using animal models.