



CNEN/SP

ipen *Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares*

PREPARAÇÃO DE CONJUNTOS DE REATIVOS LIOFILIZADOS DE
IODOFENIN PARA MARCAR COM ^{99m}Tc UTILIZADOS
EM ESTUDO HEPATOBILIAR

Marycel Figols de BARBOZA Rosana HERRERIAS Emiko MURAMOTO Maria Tereza
COLTURATO Setsuko Sato ACHANDO Nilda SOSA de PEREIRA e
Constancia P G da SILVA

PUBLICAÇÃO IPEN 285

DEZEMBRO/1989

SÃO PAULO

**PREPARAÇÃO DE CONJUNTOS DE REATIVOS LIOFILIZADOS DE
IODOFENIN PARA MARCAR COM ^{99m}Tc UTILIZADOS
EM ESTUDO HEPATOBILIAR**

Marycel Figols de BARBOZA Rosana HERRERIAS Emiko MURAMOTO Maria Tereza
COLTURATO Setsuko Sato ACHANDO Nilda SOSA de PEREIRA e
Constancia P G da SILVA

DEPARTAMENTO DE PROCESSAMENTO

Série PUBLICAÇÃO IPEN

INIS Categories and Descriptors

B13 30

C21 20

IMINES

LABELLING

LIVER

LYOPHILIZATION

METASTABLE STATES

TECHNETIUM 99

IPEN Doc 3627

Aprovado para publicação em 29/08/89

Nota: A redação ortográfica, conceitos e revisão final são de responsabilidade do(s) autor(es)

PREPARAÇÃO DE CONJUNTOS DE REATIVOS LIOFILIZADOS DE
IODOFENIN PARA MARCAR COM ^{99m}Tc , UTILIZADOS EM ESTUDO
HEPATOBILIAR*

Marycel Figols de BARBOZA, Rosana HERRERIAS, Emiko
MURAMOTO, Maria Tereza COLTURATO, Setsuko Sato ACHANDO, Nilda
SOSA de PEREIRA, Constanca P G da SILVA

Comissão Nacional de Energia Nuclear
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
Caixa Postal 11049 - Pinheiros
05499 - São Paulo - Brasil

RESUMO

Prepararam-se conjuntos de reativos liofilizados do ácido trimetil iodoacetamido iminodiacético (IODOFENIN) para marcar com ^{99m}Tc , contendo em cada frasco 20 mg de iodofenin 0,2 mg de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, pH 5,5. Realizaram-se controles de qualidade radioquímico e biológico. No controle de pureza radioquímica analisaram-se os seguintes parâmetros: a) volume de ^{99m}Tc (1, 3 e 5 mL), b) atividade de ^{99m}Tc (37, 370, 1110 e 1850 MBq) e c) tempo de estocagem do conjunto de reativo (1, 3, 6 e 12 meses). Os resultados demonstraram que o produto apresenta uma pureza radioquímica de 95-99% nos parâmetros estudados com uma estabilidade de 12 meses para seu uso. Utilizaram-se ratos (Wistar) de peso médio 200 g para avaliar o comportamento biológico. Neste estudo observou-se uma captação de 67% pelo fígado, aos 5 minutos decrescendo em 2 horas e apresentando no decorrer do metabolismo uma alta captação gastro-intestinal (98%). Na biliar, o produto manteve a sua integridade (93%) até 20 minutos após sua eluição.

* Trabalho a ser apresentado no XI Congresso de La Asociación Latinoamericana de Sociedade de Biología y Medicina Nuclear - ALASBIMN, a realizar-se em Santiago - Chile, Out. 8-11, 1989.

PREPARATION OF LYOPHYLIZED KITS OF IODOFENIN FOR
LABELING WITH ^{99m}Tc , UTILIZED IN
HEPATIC -BILIARY STUDIES*

Marycel Figols de BARBOZA, Rosana HERRERIAS, Emiko
MURAMOTO, Maria Tezeza COLTURATO, Setsuko Sato ACHANDO, Nilda
SOSA de PEREIRA, Constância P G da SILVA

Comissão Nacional de Energia Nuclear
Instituto de Pesquisas Energeticas e Nucleares
Caixa Postal 11049 - Pinheiros
05499 - São Paulo - Brasil

ABSTRACT

Lyophilized kits of iodo-trimetil iminodiacetic acid (Iodofenin) were prepared for labeling with ^{99m}Tc , each vials containing 20 mg iodofenin and 0,2 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ at pH 5,5. Radiochemical and biological controls were performed. The radiochemical purity were determined and differents parameters were studies: a) volume (1, 3 and 5 ml) of ^{99m}Tc , b) activity (37, 370, 1110 and 1850 MBq) and c) storage at 4 °C during 12 months. The results show a radiochemical purity (95-99%) in all conditions and the product is stable until 12 months after preparation. Rats (Wistar) 200 g weight were used for biological control. In the study the liver uptake was 67% in 5 minutes, showing during the metabolism an increase uptake in stomach-intestine (98%). The labeled compound was unaltered in bile until 20 minutes after its elimination.

* Paper to be presented at XI Congresso de La Asociación Latinoamericana de Sociedade de Biología y Medicina Nuclear - ALASBIMN, held in Santiago - Chile Oct 08-11, 1989

1 INTRODUÇÃO

Numerosos derivados do ácido iminodiacético (IDA) marcados com ^{99m}Tc são utilizados, atualmente, com sucesso no diagnóstico das doenças hepatobiliares.

As propriedades biológicas desses radiotraçadores são modificadas pela introdução de diversos radicais no ácido fenil carbamoil iminodiacético (base da maioria dos derivados do IDA).

Vários autores descrevem essas modificações, *Loberg*³ 1976 e *Molter*⁴ 1981, assim como estudos clínicos comparativos (*Weissan*). O desenvolvimento recente relativo a estes agentes hepatobiliares e a utilização de derivados halogenados, tais como Br ou I introduzidos no anel benzênico do IDA.

O transporte de bromometil-IDA ^{99m}Tc é feito via hepatobiliar com rápida depuração sanguínea e mínima excreção urinária, quando comparado com os compostos não halogenados⁵.

O Iodofenin ou Iodotrimetil-IDA estudado por *Subramanian*⁶ e *Chitolis e col*² demonstrou ser similar ao Mebrofenin no que se refere ao comportamento biológico em animais de laboratório.

O objetivo deste trabalho é preparar conjuntos de reativos liofilizados de Iodofenin para marcar com ^{99m}Tc e realizar os controles de qualidade (radioquímico, biológico e de estabilidade).

2 MATERIAIS E METODOS

2.1 Radiofármaco

O ácido N-(3-iodo-2,4,6-trimetilfenil)carbamoilimino diacético - IODOFENIN (Figura 1) foi cedido pela Comissão Argentina de Energia Atômica e os conjuntos de reativos liofilizados foram preparados de acordo com os trabalhos de *Arguelles e col*¹, sendo que cada frasco contém 20 mg de iodofenin e 0,2 mg de $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em pH 5,5. Estes foram liofilizados e o produto foi marcado com solução de $^{99m}\text{TcO}_4$ (IPEN-TEC). O volume utilizado nos ensaios radioquímicos e biológicos variaram de 1 a 3 mL com uma concentração radioativa de 37 MBq/mL.

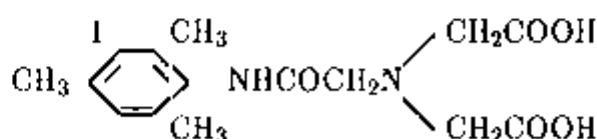


FIGURA 1 - Ácido 3-iodo-2,4,6-trimetilfenilcarbamoilimino diacético - (IODOFENIN)

2.2 Controle radioquímico

A pureza radioquímica foi determinada pelo método cromatográfico miniaturizado em papel Whatman nº 3 (1x8 cm) usando como solvente metanol 85% e cloreto de sódio 30%. Neste estudo foram avaliados os seguintes parâmetros:

- volume da solução de $^{99m}\text{TcO}_4$ (1, 3 e 5 mL) com atividade constante de 37 MBq/mL por um período de tempo de 4 horas,
- atividade da solução de $^{99m}\text{TcO}_4$ (37, 370, 1110, 1850 MBq), com volume constante de 1 mL,
- estabilidade do composto (Iodofem) até 12 meses após a preparação do produto (1, 3, 6 e 12 meses)

2.3 Ensaio Biológico

- Ratos Wistar previamente anestesiados com Uretana (100 mg/100 g de peso corporal) foram injetados por via endovenosa com 3,7 MBq de Iodofem- ^{99m}Tc e sacrificados após 5, 15, 30, 60 e 120 minutos. Coletaram-se amostras de sangue e retirados os seguintes órgãos: coração, baço, fígado, pulmão, estômago, intestino e rins. Estes órgãos foram lavados, pesados e a radioatividade determinada num contador gama, tipo poço da Nuclear Chicago. Os dados foram expressos em % dose/órgão e % atividade total/órgão.
- Estudo da distribuição do Iodofem- ^{99m}Tc em ratos Wistar normais, realizado em um cintilador linear da Nuclear Chicago (Pho-Dot), por meio de cintilogramas seriado de corpo inteiro até 2 horas após a administração do radiofarmaco (3,7 MBq).
- A um grupo de ratos submetidos a canulação do coledoco, administraram-se 9,25 MBq do traçador, e nos intervalos de 5, 20, 40 e 60 minutos coletaram-se amostras de bílis, que foram posteriormente analisadas por cromatografia em papel.
- O produto obtido de acordo com o item c) foi reinjetado em ratos para avaliar o comportamento biológico da bílis-Iodofem- ^{99m}Tc (coletada durante 120 minutos), com auxílio da cintilografia linear.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela I ilustra o percentual da pureza radioquímica do Iodofem- ^{99m}Tc obtida com diferentes volumes de solução de ^{99m}Tc (1, 3 e 5 mL) em função do tempo de reação (minutos), mantendo-se constante a concentração radioativa de 37 MBq/mL (1 mCi/mL). Os rendimentos variaram de 99,0 – 98,3 % e 97,2 % com 1, 3 e 5 mL respectivamente, no intervalo de tempo de reação de 4 horas.

Na Tabela II estão relacionados os resultados (%) da pureza radioquímica do Iodofem- ^{99m}Tc , marcado com diferentes atividades de solução de ^{99m}Tc . Obtiveram-se rendimentos de 97,7 a 95,2% em todos os ensaios realizados,

verificando-se que uma atividade de 1850 MBq (50 mCi) o produto apresenta um alto rendimento de marcação

A Tabela III demonstra que o farmaco manteve-se estável durante 12 meses a 4 °C após a sua preparação

A distribuição biológica do Iodofenn-^{99m}Tc pode ser avaliada pelos resultados apresentados nas Tabelas IV e V. Em 5 minutos, apenas uma quantidade mínima do produto (0,35%) encontra-se na corrente sanguínea e, uma percentagem maior está concentrada no fígado (33,20%), dados que estão em concordância com as pesquisas de *Chiotellis*² e *Subramanian e col*⁶

O radiofarmaco é totalmente conduzido ao sistema gastro-intestinal pelo mecanismo fisiológico atingindo uma captação de 45,0% de dose aos 120 minutos, este processo provavelmente é devido a uma ação metabólica. Pela análise cromatográfica (Figura 3 e Tabela VI) pode-se verificar que nos primeiros 20 minutos o Iodofenn-^{99m}Tc não sofre ação enzimática no fígado sendo eliminado na sua integridade pela bilis (93%), processo confirmado nos cintilogramas ilustrados na Figura 5, onde se observa o comportamento biológico da bilis com Iodofenn-^{99m}Tc sendo similar ao da forma original (Figura 4) quando injetada por via endovenosa em ratos

A excreção hepática do Iodofenn-^{99m}Tc ao sistema gastro-intestinal está representado na Figura 2, observa-se que, praticamente, toda a radioatividade (95%) encontra-se no intestino 120 minutos após a dose traçadora. *Chiotellis e col*² relatam uma captação máxima (97%) no sistema intestino-vesícula biliar de ratos no mesmo intervalo de tempo, eles estudaram também o transporte hepatobiliar sob infusão de bilirrubina, verificando que 55% de dose se encontra na bilis de ratos, 75 minutos após a administração do radiofarmaco. No entanto, neste estudo o valor encontrado de 93% de dose na bilis de ratos foi obtida sem infusão de bilirrubina e em um período de tempo de 120 minutos

Os derivados halogenados do IDA e principalmente o Iodofenn são agentes que apresentam alta especificidade pelas vias biliares, sendo eficiente na detecção de obstrução biliar, com rápido trânsito do sistema hepato-biliar. É um produto de fácil preparação e marcação, estável e com alto rendimento de pureza radioquímica

4 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Aldo A. E. Mitta da Comisión Argentina de Energía Atómica por ter cedido a droga, Iodofenn

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ARGUELLES, M G, LEON, A L, VERDERA, E S, LEON, E, CAÑELLAS, C O, MITTA, A E A. "Disiopropel-IDA, Mebiofenn y Iodofenn Marcados con ^{99m}Tc, Su Evaluacion En Varios Modelos Biologicos" Radiopharmacology progress in radiopharmacology,

proceedings of the 5th international symposium on radiopharmacology held in Buenos Aires, Argentina, 29-31 October, 1986 Buenos Aires, 1987 p 189-200

- 2 CHIOTELLIS, E & VARVARIGOU, A Comparison of ^{99m}Tc -Halogenates iminodiacetates in experimental animal J Labelled Comp and Radiopharm , 24 949-955, 1987
- 3 LOBERG, M D , COOPER, M , HARVEY, E , CALLERY, P , FAITH, W Development of new radiopharmaceuticals based on N-substitution of iminodiacetic acid J Nucl Med , 17 633-638, 1978
- 4 MALTER, M & KLOSS, G Properties of various IDA derivatives J Labelled Comp and Radiopharm , 18 56-8, 1981
- 5 NUNN, A D LOBERG, M D , CONLEY, R A A structure - distribution - relationship approach leading to the development of ^{99m}Tc -mebrofenin An improved cholescintigraphic agent J Nucl Med , 24 423-430, 1983
- 6 SUBRAMANIAN, G , SCHNEIDER, R F , MCAFEE, J G , TELD, T , PALLADINO, E , ZAPF-LONGO, C , THOMAS, F D Synthesis and evaluation of new ^{99m}Tc -labeled iodine substituted acetanilido iminodiacetates J Labelled Comp and Radiopharm , 19 1462-1463, 1988

TABELA I – CONTROLE RADIOQUÍMICO DO IODOFENIN-^{99m}Tc

Tempo (minutos)	Volume (mL)		
	1	2	3
15	98,9	98,8	96,5
30	99,2	98,2	97,5
60	99,1	98,1	97,8
120	99,3	98,7	97,6
180	99,0	98,2	97,5
240	99,0	98,3	97,2

Determinação da pureza radioquímica do Iodofenin-^{99m}Tc (%), marcado com diferentes volumes de solução de ^{99m}TcO₄, mantendo-se constante a concentração radioativa (37 MBq/mL)

TABELA II – CONTROLE RADIOQUÍMICO DO IODOFENIN-^{99m}Tc

Tempo (minutos)	Atividade (MBq)		
	370	1110	1850
15	97,9	96,7	96,4
30	96,7	96,3	96,1
60	96,5	95,2	95,6
120	96,6	95,5	96,5
180	96,7	96,4	95,8
240	96,4	95,8	95,6

Determinação da pureza radioquímica do Iodofenin-^{99m}Tc (%), marcado com diferentes atividades de solução de ^{99m}TcO₄

TABELA III - CONTROLE DA ESTABILIDADE DO IODOFENIN

Tempo (minutos)	Tempo (meses)			
	1	3	6	12
15	98,8	97,4	97,5	96,5
30	99,2	97,7	97,3	95,7
60	99,1	97,9	97,1	95,2
120	99,3	97,8	96,2	95,3
180	99,0	96,9	95,3	95,2
240	99,3	95,9	96,4	95,1

Determinação da pureza radioquímica do Iodofenin (%) realizado em função de tempo de estocagem (meses) e do tempo de reação (minutos) com uma concentração radioativa de 37 MBq/mL de solução de $^{99m}\text{TcO}_4$

TABELA IV - DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA DA IODOFENIN- ^{99m}Tc EM RATOS WISTAR (n=6), EXPRESSO EM % DOSE/ÓRGÃO

Órgão	Tempo (minutos)				
	1	15	30	60	120
Coração	0,20 ±0,08	0,04 ±0,01	0,01 ±0,004	0,01 ±0,004	0,003 ±0,0002
Fígado	33,20 ±2,58	15,20 ±2,10	3,76 ±1,49	1,64 ±0,87	0,51 ±0,14
Estômago + Intestino	14,64 ±3,53	31,64 ±0,65	39,46 ±3,61	40,30 ±8,43	45,05 ±9,66
Pulmão	0,28 ±0,05	0,12 ±0,02	0,05 ±0,02	0,05 ±0,01	0,01 ±0,004
Rim	0,32 ±0,07	0,20 ±0,04	0,14 ±0,04	0,15 ±0,03	0,13 ±0,02
Sangue	0,35 ±0,12	0,06 ±0,03	0,01 ±0,01	0,01 ±0,005	0,01 ±0,000

TABELA V - DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA DA IODOFENIN-^{99m}Tc EM RATOS WISTAR (n=6), EXPRESSO EM % ATIVIDADE TOTAL/ÓRGÃO

Órgão	Tempo (minutos)				
	1	15	30	60	120
Coração	0,41 ±0,14	0,10 ±0,06	0,03 ±0,01	0,02 ±0,007	0,01 ±0,001
Fígado	67,90 ±8,78	26,84 ±5,44	7,89 ±4,61	3,57 ±1,42	1,12 ±0,39
Estômago + Intestino	31,34 ±8,43	72,23 ±5,60	89,65 ±4,28	96,29 ±1,52	98,50 ±0,46
Pulmão	0,66 ±0,04	0,24 ±0,17	0,11 ±0,02	0,14 ±0,05	0,04 ±0,03
Rim	0,79 ±0,20	0,43 ±0,18	0,35 ±0,07	0,32 ±0,02	0,28 ±0,03
Sangue:	0,61 ±0,23	0,18 ±0,18	0,04 ±0,03	0,03 ±0,01	0,01 ±0,005

TABELA VI - DETERMINAÇÃO DA PUREZA RADIOQUÍMICA NA BILIS DE RATOS (n=3) COLHIDA EM DIFERENTES TEMPOS APÓS ADMINISTRAÇÃO DO IODOFENIN-^{99m}Tc

%	Tempo (minutos)			
	5	20	40	60
Iodo- fenin- ^{99m} Tc	94,03	93,00	80,40	73,12

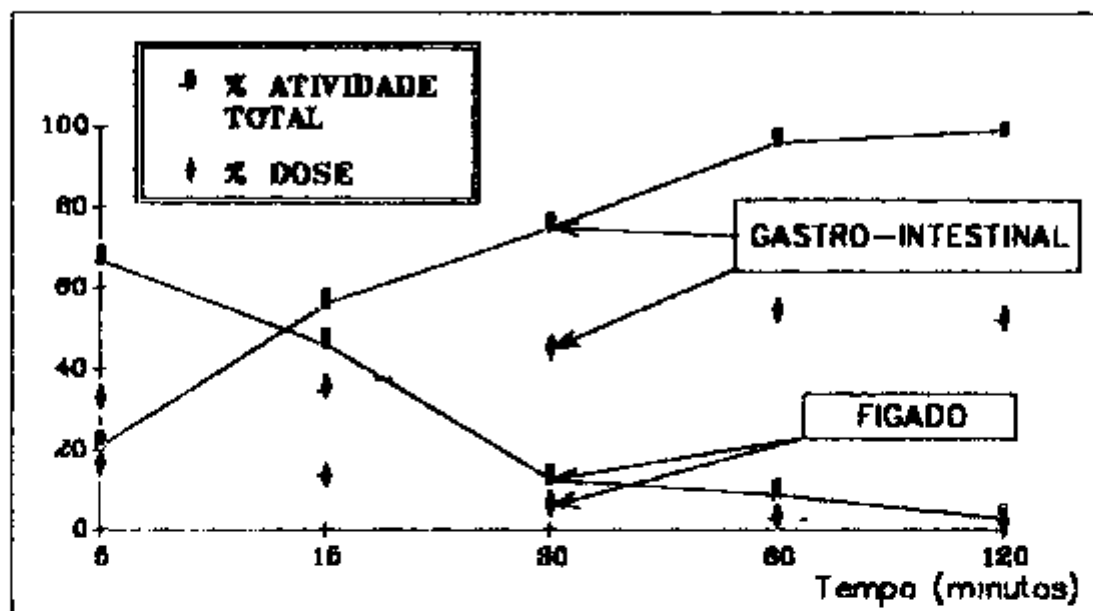


FIGURA 2 - Distribuição biológica do IODOFENIN-^{99m}Tc em ratos Wistar (n=9), expresso em % de dose/orgão e % atividade total/orgão em função do tempo após administração do traçador

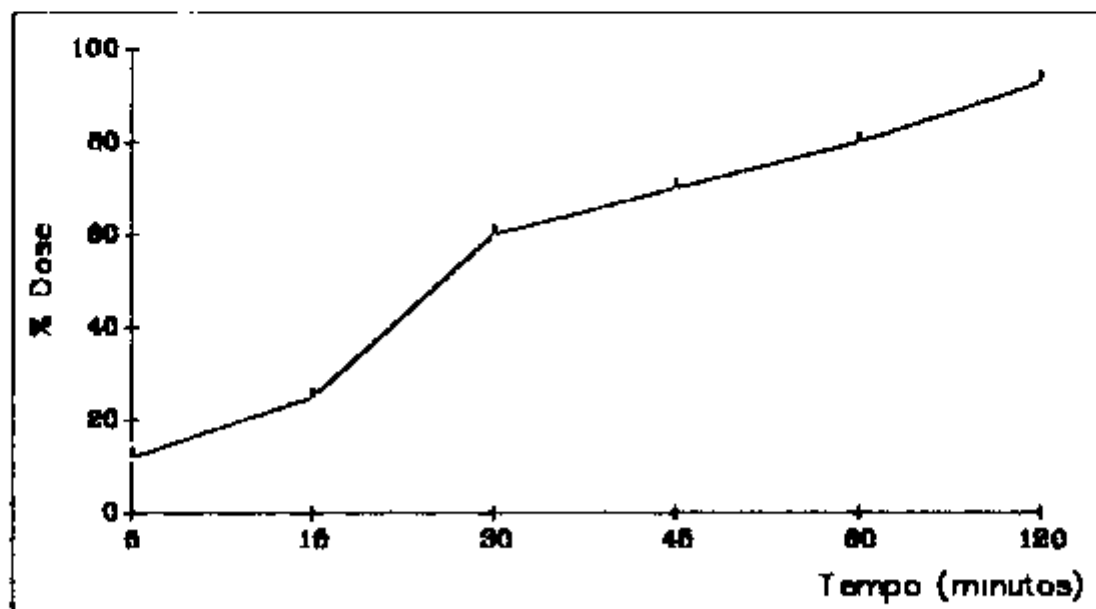
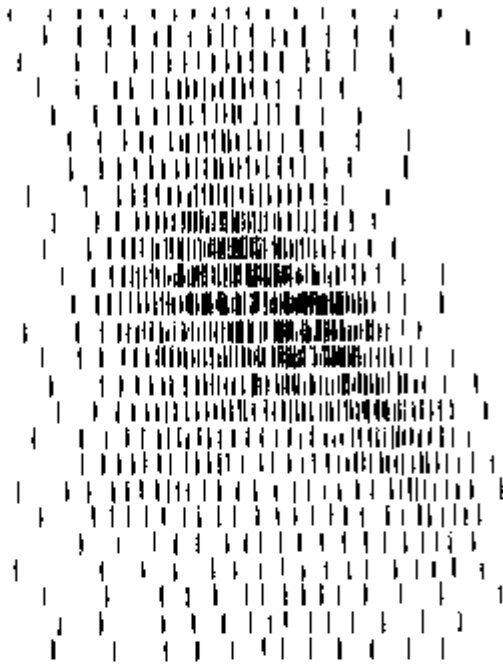
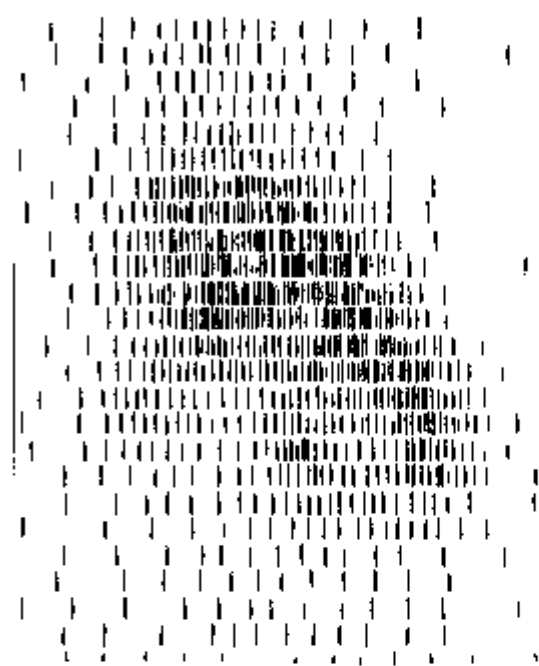


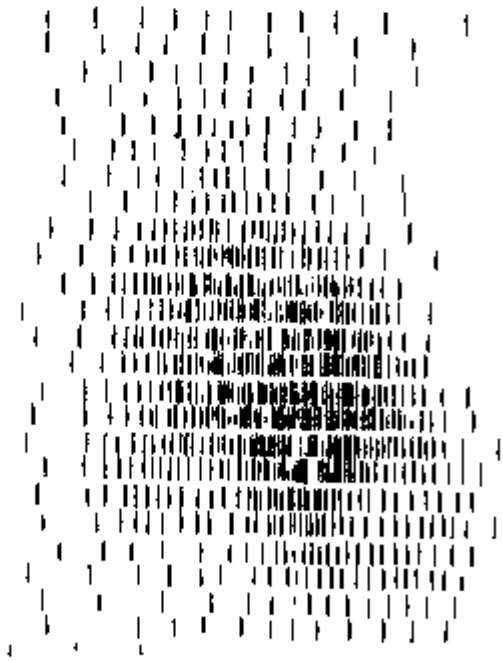
FIGURA 3 - % da dose acumulada na bile de ratos Wistar (n=3) em função do tempo após administração do radiofármaco (IODOFENIN-^{99m}Tc) Dose = 9,25 MBq (250 µCi)



5 minutos



15 minutos



30 minutos



60 minutos

FIGURA 4 – Cintilografia realizada em ratos
Wistar do IODOFENIN-^{99m}Tc

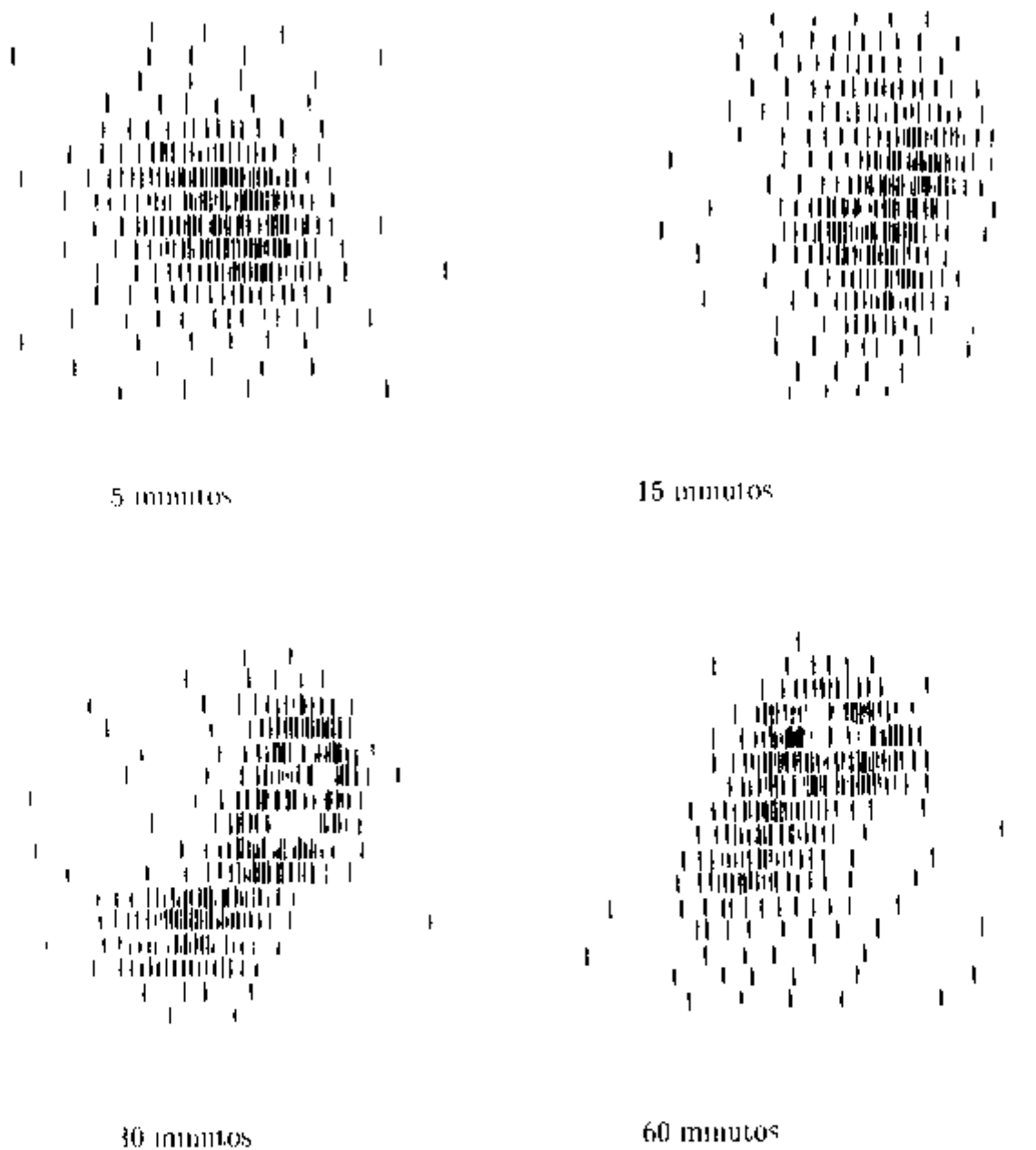


FIGURA 5 – Cintilografia realizada em rato *Wistar*
da bilis – IODOFENIN-¹²⁵mCi