

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

~~SÃO PAULO~~ dk.

SÍNTESE, MARCAÇÃO E ESTUDOS BIOLÓGICOS DO ÁCIDO
16-¹³¹I-HEXADECANOICO PARA CINTILOGRAFIAS
DO MIOCÁRDIO

MARIA KAZUE SATO

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Tecnologia Nuclear.

Orientador: Dra. Maria Aparecida T. Mercillo de Almeida



SÃO PAULO

1988

*Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
IPEN-CNEN/SP na pessoa de seu Superintendente Dr. Claudio
Rodrigues e demais Diretores, pela oportunidade concedida
na realização da Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear.*

Ao Prof. Dr. Edwaldo Eduardo Camargo, Diretor do Centro de Medicina Nuclear, pelo constante incentivo e orientação em pesquisa científica;

À Dra. Maria Aparecida T.M. Almeida, pela dedicação na orientação deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Tede Eston de Eston e Prof^a Dra. Verônica Rapp de Eston, fundadores do Centro de Medicina Nuclear, co-autores na minha formação em Metodologia de Radioisótopos,

meu especial agradecimento.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Constância Pagano Gonçalves da Silva, Chefe do Departamento de Processamento do IPEN-CNEN/SP;

Ao Prof. Assistente Dr. Alípio Luiz Dias Neto, Físico do Centro de Medicina Nuclear;

Ao Prof. Assistente Dr. Yukino Miyata, do Departamento de Química Fundamental - Instituto de Química - U.S.P.;

À Dra. Jacyra Bertoncini Torres, Chefe da Divisão de Radioisotopia Clínica do Centro de Medicina Nuclear;

Ao Dr. José Claudio Meneguetti, Médico Chefe do Serviço de Radioisótopos do INCOR-H.C. F.M.U.S.P.;

Ao Sr. Luiz Bertuccelli Filho, Encarregado do Biotério do Centro de Medicina Nuclear;

Ao Prof. Roberto L. Rockmann, Físico do Centro de Medicina Nuclear pelas análises estatísticas;

À Dra. Nilda Petrona Sosa de Pereira, Chefe da Divisão de Controle de Qualidade IPEN-CNEN/SP;

À Elena Humada e Rodza da Silva Valente Gonçalves da Divisão de Radiofarmácia do IPEN-CNEN/SP, pela valiosa colaboração;

À Gildê de Castro Dourado Hemielewski, Bibliotecária do Centro de Medicina Nuclear;

Ao Prof. José Maria Fernandes Neto, Físico do Centro
de Medicina Nuclear pelas sugestões;

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram
na realização deste trabalho.

ÍNDICE

	<u>PÁGINA</u>
1. INTRODUÇÃO	01
1.1. Aspectos Fisiológicos e Bioquímicos	05
2. OBJETIVO	09
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1. Material	10
3.1.1. Equipamentos	10
3.1.2. Reagentes Químicos	11
3.1.3. Radioelemento	12
3.2. Métodos	12
3.2.1. Preparação de Reagentes	12
3.2.1.1. Piridina Anidra	12
3.2.1.2. Purificação do Cloreto de Tosila	12
3.2.1.3. Preparação de Resina Amberlite IRA-400 (Standard Grade)	12

ÍNDICE

PÁGINA

3.2.2.	Síntese	13
3.2.2.1.	Síntese de Ácido 16-Iodo-Hexadecanóico.	13
3.2.3.	Marcação do Ácido 16-Iodo-Hexadecanóico com Na ¹³¹ I	14
3.2.4.	Purificação e Controle Radioquímico	15
3.2.5.	Formulação Farmacêutica	16
3.2.6.	Distribuição Biológica e Níveis Plasmáti cos de Ácido 16- ¹³¹ I-Hexadecanóico em Ra tos	16
3.2.7.	Cintilografia em Cães e em Seres Humanos.	17
4.	RESULTADOS	18
4.1.	Rendimentos de Síntese e Análises Físico-Quí micas	18
4.1.1.	Ácido 16-Tosil-Hexadecanóico	18
4.1.2.	Ácido 16-Iodohexadecanóico	19

ÍNDICE

	<u>PÁGINA</u>
4.2. Marcação	23
4.2.1. Determinação do Rendimento de Marcação ..	23
4.2.2. Controle Radioquímico	23
4.3. Estabilidade do Composto Marcado	24
4.4. Utilização em Cães e em Seres Humanos	24
4.5. Distribuição Biológica	26
5. DISCUSSÃO	39
6. CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

SÍNTESE, MARCAÇÃO E ESTUDOS BIOLÓGICOS DO ÁCIDO 16-¹³¹I-HEXADECANÓICO PARA CINTILOGRAFIAS DO MIOCÁRDIO

MARIA KAZUE SATO

RESUMO

O crescente interesse na obtenção de radiofármacos capazes de fornecer a imagem metabólica do músculo cardíaco, levou-nos à preparação do ÁCIDO 16-¹³¹I-HEXADECANÓICO por meio da tosilção do hidróxiácido correspondente, seguida de iodacão com iodeto de sódio, (NaI) e finalmente, introduzindo-se o radioiodo (¹³¹I) por reação de troca isotópica.

Identificaram-se os produtos após cada reação, determinando-se o ponto de fusão, análise elementar e análises espectroscópicas: absorção em infravermelho e ressonância nuclear magnética.

O radiofármaco submetido a controles radioquímicos e outros específicos para injetáveis como esterilidade e apirogenicidade, foi utilizado primeiramente em cães comprovando-se a captação preferencial em miocárdio e fígado. A seguir foram estudados em pacientes com e sem cardiopatias.

A distribuição biológica do ÁCIDO 16-¹³¹I-HEXADECANÓICO foi realizada em ratos Wistar.

Os resultados cintilográficos tanto em cães como em humanos demonstraram que o ÁCIDO 16-¹³¹I-HEXADECANÓICO é adequado para se estudar as áreas viáveis e as trocas energéticas do músculo cardíaco.

SYNTHESIS, LABELING AND BIOLOGIC STUDIES OF 16-¹³¹I-HEXADECANOIC ACID FOR MYOCARDIAL SCINTIGRAPHIES

MARIA KAZUE SATO

ABSTRACT

The increasing interest in obtaining radiopharmaceuticals for metabolic imaging of heart muscle led us to prepare 16-¹³¹I-HEXADECANOIC ACID by tosylation of the corresponding hydroxy acid, following iodination with NaI and finally, introducing radioiodine (Na¹³¹I) by isotopic exchange reaction.

The reaction products were identified by determination of melting point, elementary and spectroscopic analysis such as infra-red absorption and magnetic nuclear resonance.

The radiopharmaceutical after radiochemical and other specific control procedures for injectable such as sterility and apyrogenicity, was firstly utilized in dogs; preferential uptake by the heart, as well as by the liver was confirmed. Then, studies in patients with or without heart diseases were performed.

The biodistribution of 16-¹³¹I-HEXADECANOIC ACID was carried out in Wistar rats.

The scintigraphic images in animals and in humans demonstrated that 16-¹³¹I-HEXADECANOIC ACID is suitable for studying viable areas as well as energetic exchange of heart muscle.

1. INTRODUÇÃO

A evolução da Medicina Nuclear na obtenção de imagens do miocárdio tem sido relativamente lenta, sempre à procura de um radiofármaco com características físicas e biológicas adequadas. Sob o ponto de vista teórico, a cintilografia do miocárdio, obtida após a administração de um traçador radioativo conveniente, resulta em um meio de se identificar e quantificar áreas de isquemia ou infarte.

Os primeiros trabalhos desenvolvidos sobre técnicas não invasivas no estudo da função miocárdica com traçadores radioativos foram os de Carr, Beierwaltes e col.⁽⁴⁾. A extração dos traçadores iônicos pelo músculo cardíaco depende não somente do fluxo, mas também do mecanismo de transporte de cations. O acúmulo de traçadores no miocárdio normal e anormal depende de uma combinação de fatores afetando o fluxo, extração e metabolismo.

Um grande número de traçadores iônicos da família dos metais alcalinos, como o césio-131, o rubídeo-81, análogos do cation intracelular potássio, foram empregados sem grande sucesso^(5,19).

Todavia, em 1971, quando o potássio-43 passou a ser disponível no mercado, foi possível obter imagens do coração de qualidade sofrível⁽¹⁴⁾. A degradação da imagem se deve às características do potássio-43 com energias gama de 373 keV (85%) e 619 keV (81%), pois, a contribuição Compton proveniente do fóton de 619 keV contribui na janela do fóton 373 keV.

Além do mais o próprio fóton de 619 keV penetra facilmente os septos dos colimadores para alta energia das câmaras de cintilação, degradando assim, a resolução espacial do sistema.

A distribuição biológica de um traçador que se acumula seletivamente no miocárdio normal, será ao mesmo tempo um índice da perfusão sanguínea (fluxo) e da função celular dos miócitos⁽¹⁶⁾. Atualmente o traçador que apresenta estas características é o tálio-201, (^{201}Tl), introduzido por Lebowitz e col.⁽¹⁸⁾.

Em termos de distribuição no órgão e função neuro-fisiológica, o tálio é biologicamente semelhante ao potássio, cation intracelular, apresentando porém melhores características físicas e biológicas que este. Com o ^{201}Tl pode-se demonstrar áreas de isquemia após exercício e áreas não perfundidas representando infarto.

O tálio-201 decai por captura eletrônica com uma meia vida física de 73 horas. Emite raios X de 69-83 keV, (98%) e radiação gama de 135 e 167 keV (10%) e biologicamente mimetiza o potássio. Suas desvantagens porém são a baixa energia, no limite inferior de eficiência das câmaras de cintilação e o alto custo pelas dificuldades na sua obtenção, inviabilizando seu uso em rotina.

Na busca de novos e mais eficientes radiofármacos, adequados para o estudo da função miocárdica, Evans e col.⁽¹⁰⁾ demonstraram que ácidos graxos insaturados de cadeia longa, marcados com iodo radioativo, poderiam ser utilizados para cin

tilografia do miocárdio, uma vez que a fonte primária de energia para o músculo cardíaco normal sob condições fisiológicas é a β -oxidação de ácidos graxos.

A vantagem dos ácidos graxos sobre os traçadores iônicos, ^{201}Tl e ^{43}K , é que essa classe de lipídeos permite também acompanhar as trocas metabólicas das células miocárdicas, com obtenção de imagens sequenciais.

Os ácidos graxos, substratos fisiológicos do músculo cardíaco, contribuindo com 60 a 80% para produção de energia, parecem ser os traçadores miocárdicos ideais permitindo imagens quantitativas do metabolismo cardíaco⁽²⁶⁾.

Em 1976, com a produção de iodo-123, Poe e col.⁽²⁸⁾ marcaram ácidos graxos com este isótopo, devido às características físicas ideais para cintilografia: meia vida física de 13 horas, energia gama de 159 keV (83%) e decaimento por captura eletrônica.

Estudos recentes demonstraram que os ácidos graxos ω -iodados concentram-se no miocárdio em quantidade semelhante à observada com seus homólogos naturais de cadeia longa⁽²⁴⁾.

A maior limitação ao uso de ácidos graxos marcados de cadeia longa é a rápida metabolização e como consequência o aparecimento de níveis indesejáveis de radioatividade na corrente sanguínea^(21,30).

Diversos autores sintetizaram e marcaram ácidos gra

xos com iodo radioativo utilizando vários métodos de síntese orgânica e marcação⁽¹⁵⁾. Inicialmente, a marcação de ácidos ω-iodados com iodo radioativo foi realizada por troca com o bromo - derivado correspondente⁽¹⁷⁾.

Esforços foram feitos no sentido de se obter um produto de alto rendimento radioquímico e de síntese rápida para que o mesmo pudesse ser utilizado prontamente para fins clínicos^(8,31).

O átomo de iodo, com um raio de Van der Waals de 2,15 Å é aproximadamente igual ao grupo metila, cujo raio de Van der Waals é de 2 Å. Assim sendo, o ácido 16-iodo-hexadecanóico é estruturalmente análogo ao seu correspondente natural, ácido palmítico.

Recentemente tem sido desenvolvidas isonitrilas marcadas com ^{99m}Tc utilizando-se as propriedades nucleares favoráveis deste isótopo: energia gama de 140 keV, meia vida física de 6 horas, os quais permitem imagens em câmara de cintilação de alta resolução e dose de radiação baixa para o paciente. Porém, as propriedades biológicas deste complexo ainda não são satisfatórias para uso clínico, aliados ao fato da dificuldade de obtenção desse produto por ser monopólio da DuPont.

Em vista das considerações expostas, pode-se concluir que os ácidos graxos se constituem num grupo de radiofarmacos economicamente mais viáveis com propriedades fisiológicas favoráveis para cintilografia cardíaca, permitindo seu uso em Medicina Nuclear.

1.1. Aspectos Fisiológicos e Bioquímicos

Os ácidos graxos livres na corrente circulatória, ou os que resultam da liberação de triglicérides por ação da lipase lipoproteína são captados diretamente pelo miocárdio na forma não esterificada⁽¹³⁾.

A sua metabolização é extremamente rápida nas células cardíacas e sua distribuição é determinada por fatores físicos e bioquímicos. No espaço intracelular esses fatores são essencialmente físicos e dependem de gradientes de concentração de ácidos graxos livres e da concentração e afinidade de sítios de ligação de proteínas^(9,12).

A passagem de ácidos graxos através da membrana celular depende de sua forma química presente e principalmente do grau de solubilidade dessa forma na camada lipídica da membrana. Além disso, há sistemas de transporte específicos como por exemplo, o sistema mediado pela carnitina na membrana interna da mitocôndria^(7,29).

Os ácidos graxos produzem energia e portanto, contribuem para a produção de adenosina trifosfato (ATP), através de uma série de reações enzimáticas denominadas de β -oxidação⁽⁶⁾.

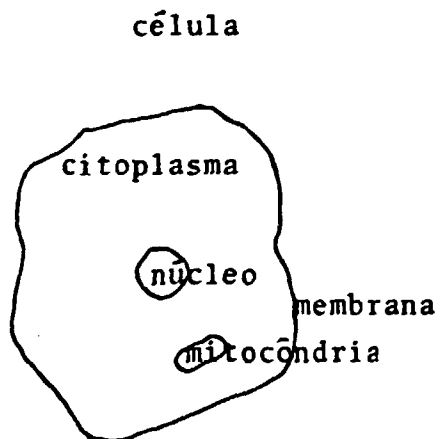
A fase inicial do metabolismo intracelular de ácidos graxos é a ativação, resultando em seu respectivo acil-coenzima A (Acil-CoA). Esse processo de ativação ocorre no citoplasma da célula miocárdica, onde uma fração de Acil-CoA sofre β -

-oxidação na mitocôndria. Grande parte dessa fração porém, é primeiramente incorporada a triglicérides, subseqüentemente liberada pela lipólise e então oxidada dentro da mitocôndria.

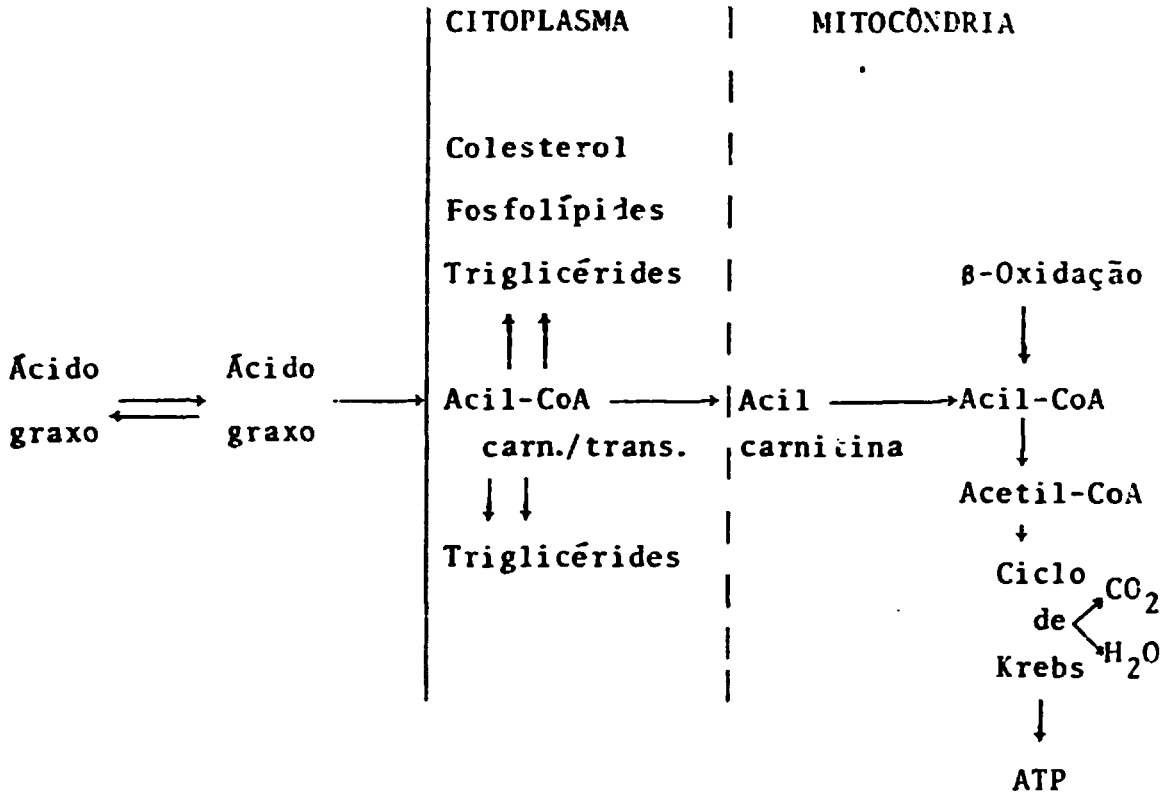
A transferência do Acil-CoA do citosol para dentro da mitocôndria requer um sistema transportador: a carnitina/carnitina - transferase. Os produtos finais deste processo são o Acetil-Coenzima A para ácidos graxos de número par de átomos de carbono e propionil-Coenzima A para os de número ímpar.

Estes compostos são finalmente oxidados através de reações do ciclo de Krebs, sendo produzidos compostos com alta energia para o trabalho do músculo cardíaco.

ESQUEMA SIMPLIFICADO DO METABOLISMO DE ÁCIDOS GRAXOS



- Ativação do ácido graxo se dá no citoplasma
- Degradação do ácido graxo (β -oxidação) se dá na mitocôndria



Um grande número de fatores pode alterar a velocidade de renovação metabólica de ácidos graxos no músculo cardíaco. A utilização do ácido graxo por este tecido é determinada pela capacidade de extração celular ou por mecanismos de controle localizados nas membranas ou no compartimento intracelular.

O fluxo sanguíneo regional, a ligação de ácidos graxos com albumina, a concentração de Coenzima A (CoA), o conteúdo de triglicérides e de carnitina, e o ciclo de ácido cítrico são mencionados como os maiores determinantes do processo metabólico cardíaco.

A extração celular é dependente da fração molar entre ácido graxo livre e albumina, comprimento da cadeia do ácido graxo e fluxo sanguíneo (23,24,33).

Além disso, a captação do ácido graxo é controlada por mudanças nos níveis de CoA livre e carnitina⁽²⁹⁾ no citosol e de alterações na velocidade de evolução do ciclo de Krebs.

A β -oxidação pode processar-se tão rapidamente quanto o ciclo de ácido cítrico oxida a CoA⁽⁷⁾. Todavia uma diminuição do teor de oxigênio decresce a atividade do ciclo de Krebs, aproximadamente na proporção que decresce o fluxo sanguíneo.

Outro fator que limita a β -oxidação é a redução dos níveis de carnitina, que leva a uma redução concomitante da velocidade de transporte de Acil-CoA para dentro da mitocôndria. Durante a isquemia cardíaca a disponibilidade de carnitina está diminuída.

Dada a importância clínica do emprego de ácidos graxos marcados com ^{123}I e ^{131}I em cintilografia do miocárdio, e devido à inexistência dos mesmos no mercado nacional, verificou-se o interesse que ora resulta na pesquisa de um radiofármaco capaz de fornecer a imagem metabólica do miocárdio.

2. OBJETIVO

O presente trabalho objetiva:

- a) Síntese do ácido 16-Iodo-hexadecanóico a partir do seu hidróxiácido correspondente, ácido 16-hidróxi-hexadecanóico.
- b) Marcação do ácido 16-Iodo-hexadecanóico com Na^{131}I .
- c) O estudo da distribuição biológica e dos níveis plasmáticos do ácido 16- ^{131}I -hexadecanóico em ratos Wistar.
- d) O estudo de sua utilização em animais de maior porte como cães e em humanos com e sem cardiopatias.
- e) Verificação da viabilidade do emprego de ácido 16- ^{131}I -hexadecanóico para cintilografia do miocárdio.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

3.1.1. Equipamentos

Para a realização deste trabalho utilizaram-se os seguintes equipamentos:

1. Aparelho Mettler FP5 acoplado a FP51, para determinação de ponto de fusão.
2. Espectrômetro de Absorção no Infravermelho - Perkin - Elmer, modelo 710-A.
3. Espectrômetro de Ressonância Nuclear Magnética - Varian, modelo T-60, operando com uma fonte de radiofrequência de 60 MHz.
4. Analizador Elementar - Perkin-Elmer, modelo 240, para determinação de C e H.
5. Cintilador de poço, com cristal de NaI(Tl) - Nuclear Chicago, modelo Ultrascaler II e H. Packard, alta tensão modelo 5551A e scaler modelo 5201 L.
6. Câmara de cintilação Ohio Nuclear, modelo Sigma 410, munido de um colimador de furos paralelos para alta energia.

7. Calibrador de radioisótopos Carpintec, modelo
CRC-10 BC.

3.1.2. Reagentes Químicos

Acetona anidra P.A. - Merck
Acetato de sódio P.A. - Merck
Ácido acético glacial P.A. - Merck
Ácido clorídrico P.A. - Merck
Ácido sulfúrico P.A. - Merck
Albumina humana 25% estéril, "Behring"
Ácido 16-hidroxihexadecanóico, 98%, Aldrich
Cloreto de p-toluenosulfonila, Carlo Erba
Clorofórmio P.A. - Merck
Etanol P.A. - Merck
Éter de petróleo P.A. - Merck
Hidróxido de potássio P.A. - Merck
Hidróxido de sódio P.A. - Merck
Iodeto de sódio P.A. - Merck
Piridina anidra P.A. - Baker
Resina de troca aniônica IRA-400 (standard grade), Laboratory BDH Reagent
Solução fisiológica, estéril, apirogênica - Baker

3.1.3. Radioelemento

Iodo-131 na forma de Na^{131}I , livre de carregador e de redutor, fornecido pelo IPEN-CNEN/SP.

3.2. Métodos

3.2.1. Preparação de Reagentes

3.2.1.1. Piridina Anidra

O material foi seco em KOH durante 4 dias e destilado em coluna de fracionamento coletando-se a fração de ebulição entre 114 a 116° C (760 mmHg).

3.2.1.2. Purificação do Cloreto de Tosila

Diluiu-se em 25 ml de éter de petróleo, 1 g de cloreto de tosila, dissolvido em 5 ml de clorofórmio. O material foi deixado em congelador a -5° C por uma noite e filtrado, lavando-se o precipitado com éter de petróleo. O material coletado foi deixado em dessecador a vácuo à temperatura ambiente.

3.2.1.3. Preparação de Resina Amberlite IRA-400 (Standard Grade)

A resina foi lavada com HCl 1 N em agitador magnético

co por 2 horas. Após esse tempo, foi lavada sucessivamente com água destilada até o filtrado apresentar pH - 7: Em seguida foi lavada com NaOH 1 N por 2 horas e repetiram-se as operações por mais 2 vezes. Finalmente, o produto a pH - 7 foi colocado em solução fisiológica.

3.2.2. Síntese

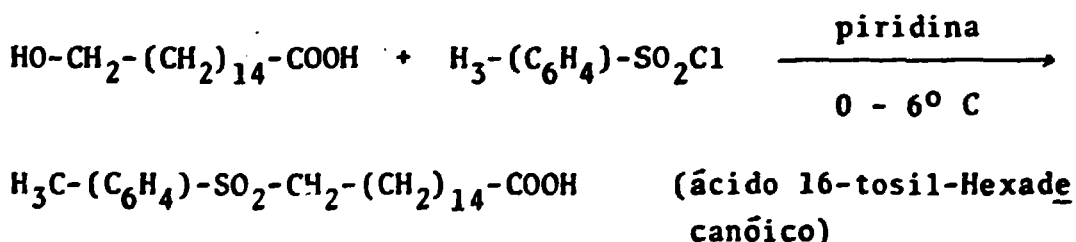
3.2.2.1. Síntese de Ácido 16-Iodo-Hexadecanóico

Partiu-se do hidroxíácido correspondente, ácido 16-hidroxi-hexadecanóico, com as seguintes etapas^(1,15):

A) TOSILAÇÃO DO ÁCIDO 16-HIDROXIHEXADECANÓICO

B) IODAÇÃO DO TOSILATO CORRESPONDENTE

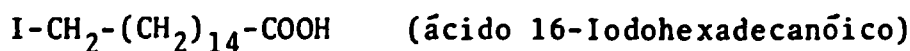
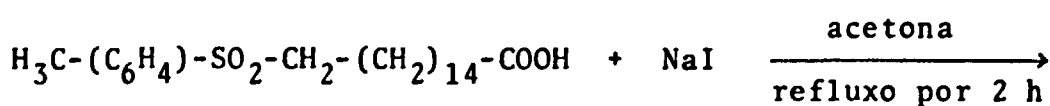
A) Tosilação do Ácido 16-Hidroxihexadecanóico



544 mg de ácido 16-hidroxihexadecanóico e 420 mg de cloreto de tosilato foram dissolvidos em 24 ml de piridina anidra. Após 17 horas de reação à temperatura de 0 a 6° C, foram adicionados 30 ml de água, formando um precipitado branco volu

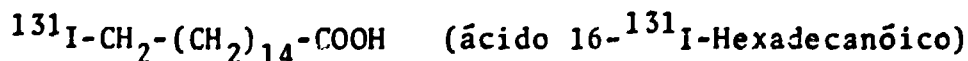
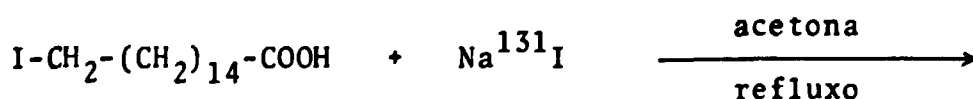
moso. O precipitado foi extraído com 3 porções de 50 ml de clorofórmio sendo a fase clorofórmica lavada com 50 ml de ácido sulfúrico 0.1 N e mais duas vezes com 50 ml de água. A fase clorofórmica seca com Na_2SO_4 , foi evaporada a vácuo e o resíduo foi cristalizado em etanol/água à temperatura de 0 a 10°C .

B) Iodação do Tosilato



Foram dissolvidos 422 mg de ácido 16-tosilhexadecanóico e 300 mg de iodeto de sódio em 10 ml de acetona e aquecido a refluxo por 2 horas. Após resfriamento, o precipitado foi coletado e lavado com acetona. O filtrado foi evaporado e cristalizado em etanol 70%.

3.2.3. Marcação do Ácido 16-Iodo-Hexadecanóico com Na^{131}I



A marcação foi feita por troca isotópica^(22,31,32) em um balão de 10 ml munido de condensador, contendo:

- 1 mg de ácido 16-iodohexadecanóico

- 370 MBq (10 mCi) de Na^{131}I
- $3,5 \times 10^{-6}$ g de NaI(carregador), dissolvido em acetona
- 2 ml de acetona

A mistura foi submetida a refluxo, em temperatura entre 55 e 60° C por 2 horas. Todo este sistema foi operado em célula de marcação de moléculas com blindagem de chumbo adequada ao manuseio de ^{131}I (3).

3.2.4. Purificação e Controle Radioquímico

O composto marcado foi separado do $^{131}\text{I}^-$ livre pela percolação em coluna de 1 x 3 cm com resina aniônica Amberlite IRA-400, na forma de cloreto e acondicionada em acetona.

O $^{131}\text{I}^-$ livre ficou retido na coluna, e o ácido 16- ^{131}I -hexadecanóico no eluato. A coluna e o balão foram lavados com 2 ml de acetona.

O controle radioquímico foi feito por eletroforese em papel de filtro Whatmann nº 1, tendo como solução tampão, acetato de sódio/ácido acético 0,2 M pH - 5,5. A voltagem aplicada foi de 350 volts por 45 minutos em fitas de 1,5 cm de largura. O ácido graxo permaneceu na origem e o $^{131}\text{I}^-$ livre, que migrou cerca de 15 cm, foi identificado por revelação com acetato de chumbo 10% em ácido acético glacial⁽²⁾. A radioatividade de das tiras de papel foi medida em detector de poço com cris

tal de NaI(Tl) após terem sido seccionadas em tiras com 1 cm de largura.

Determinou-se a porcentagem de $^{131}\text{I}^-$ livre.

3.2.5. Formulação Farmacêutica

O eluato contendo o ácido 16- ^{131}I -hexadecanóico em acetona foi tratado com nitrogênio para eliminar o solvente e em seguida o resíduo foi suspenso em 3 ml de solução fisiológica a quente. Após resfriamento, adicionou-se 1 ml de solução de albumina humana a 250 mg/ml⁽³²⁾, homogeneizando-se bem em aparelho Vortex, filtrando-se em seguida a solução em membrana Millipore 0,22 μ . As condições de esterilidade e de apirogenicidade do produto injetável obedeceram as especificações das Farmacopéias Brasileiras, 3ª edição, 1977 e Americana U.S.P. XXI edição, 1985^(11,35).

3.2.6. Distribuição Biológica e Níveis Plasmáticos de Ácido 16- ^{131}I -Hexadecanóico em Ratos

O estudo da distribuição biológica do ácido 16- ^{131}I -hexadecanóico foi realizado em ratos Wistar, pesando de 220 a 350 g. Os animais receberam ração e água "ad libitum". Os ratos foram anestesiados com éter etílico pela técnica da máscara aberta, após o que injetou-se 0,1 ml do radiofármaco na veia caudal, correspondendo a uma atividade de 370 a 740 KBq (10 a 20 μCi).

Acompanhou-se a distribuição da radioatividade nos diferentes órgãos, sacrificando-se os animais aos 3, 5, 10, 20, 25, 30 e 40 minutos após a dose administrada. Foram retiradas amostras de coração, fígado, pulmão, tireóide, músculo e de sangue por punção cardíaca.

A radioatividade foi determinada em contagens por minuto em detector de radiação gama. Estas medidas foram comparadas com um padrão de ácido 16-¹³¹I-hexadecanóico com atividade e volumes iguais ao injetado.

Os resultados foram expressos em porcentagem da dose por grama de tecido, (% dose/g tecido) e porcentagem da dose por mililitro de plasma (% dose/ml plasma).

$$\frac{\% \text{ dose}}{\text{g}} = \frac{\frac{\text{radioatividade no órgão (cpm)}}{\text{peso do órgão (g)}}}{\text{radioatividade da dose administrada}} \times 100$$

Os valores numéricos obtidos deste modo foram organizados, constando da Tabela I, (Fig. 5).

3.2.7. Cintilografia em Cães e em Seres Humanos

O radiofármaco foi utilizado em cães pesando cerca de 10 Kg, obtendo-se imagens sequenciais aos 10, 20 e 30 minutos após administração de 13 MBq (350 μ Ci) contendo 0,1 mg de ácido graxo iodado. Utilizou-se câmara de cintilação com um

colimador de alta energia e de furos paralelos. (Fig. 7)

Em seres humanos, o radiofármaco foi utilizado tanto em indivíduos normais como em portadores de cardiopatias, realizando-se imagens sequenciais aos 10, 20 e 30 minutos. (Fig. 8 e 9).

Para obtenção dessas imagens o paciente foi colocado em decúbito dorsal e a dose injetada foi de 13 MBq (350 μ Ci) contendo 0,1 mg do radiofármaco.

4. RESULTADOS

4.1. Rendimentos de Síntese e Análises Físico-Químicas

4.1.1. Ácido 16-Tosil-Hexadecanóico

Foram obtidos 336 mg de ácido 16-tosilhexadecanóico, com rendimento de 78,8%.

Ponto de Fusão: 89,5 a 90^o C

Espectro Infravermelho em pastilha de KBr, empregando-se 10 mg do produto em cada amostra. (Fig. 1).

O espectro de absorção infravermelho mostrou as seguintes bandas características: (37)

(cm^{-1})	Intensidade	Grupamento
2 900	forte	-CH ₂ -
1 710	forte	-COOH-
1 410	forte	-SO ₂ -O-

4.1.2. Ácido 16-Iodohexadecanóico

Foram obtidos 329 mg de ácido 16-Iodohexadecanóico , com rendimento de 86,0%.

Ponto de Fusão: 68 a 69^o C

Espectro Infravermelho em KBr. (Fig. 2).

O espectro de absorção infravermelho mostrou as seguintes bandas características: (37)

(cm^{-1})	Intensidade	Grupamento
2 940 - 2 980	forte	-CH ₂ -
1 700	forte	-COOH-

Ressonância Nuclear Magnética em tetracloreto de carbono. (Fig. 3).

Os deslocamentos químicos (δ) foram descritos em parte por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano, usado como referência interna.

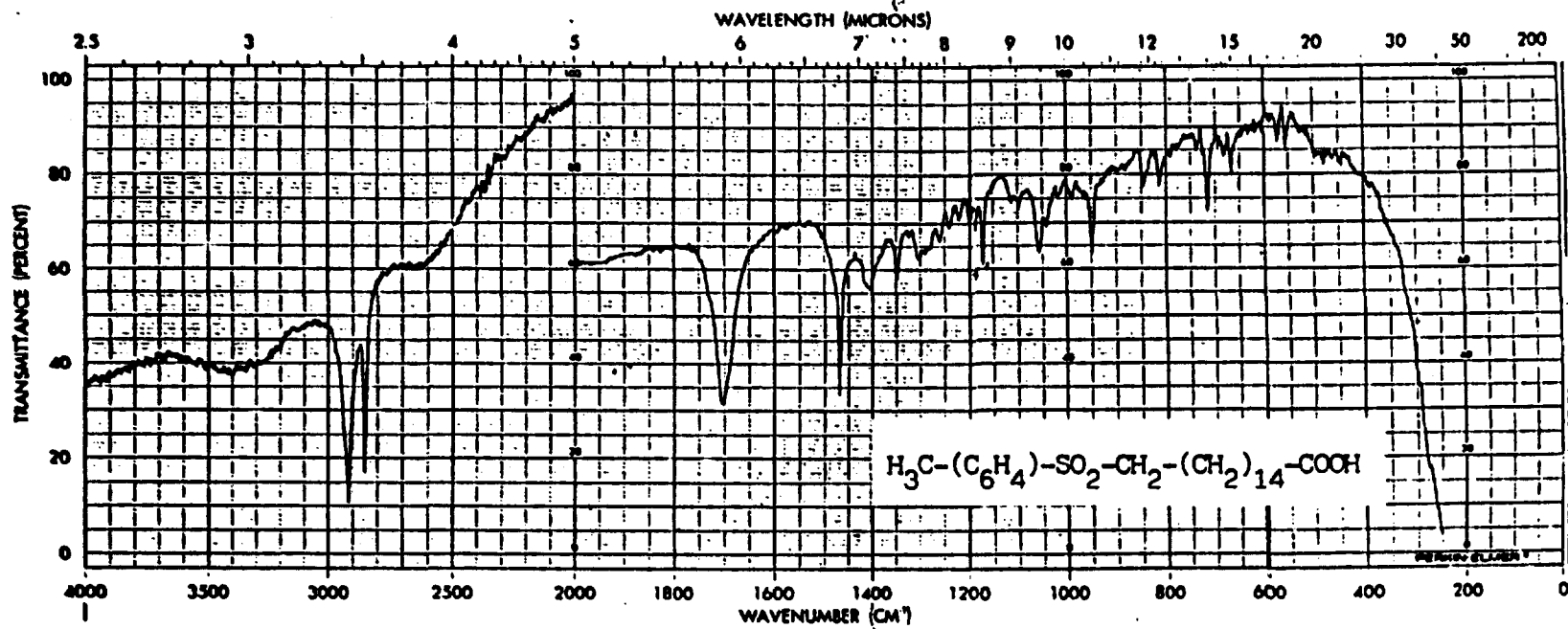


Figura 1 - Espectro Infravermelho do Ácido 16-Tosil-hexadecanóico

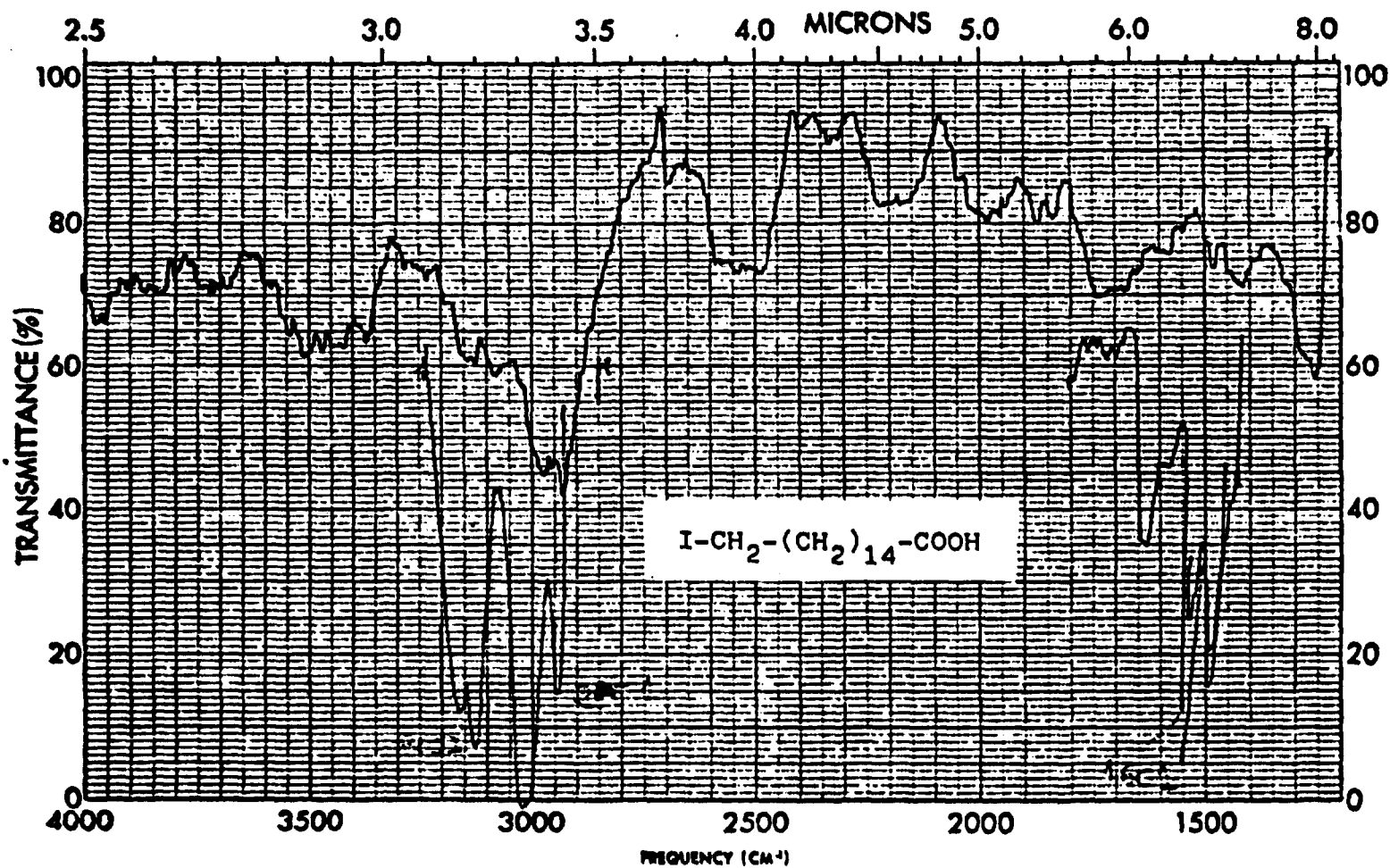


Figura 2 - Espectro Infravermelho do Ácido 16-Iodo-hexadecanóico.

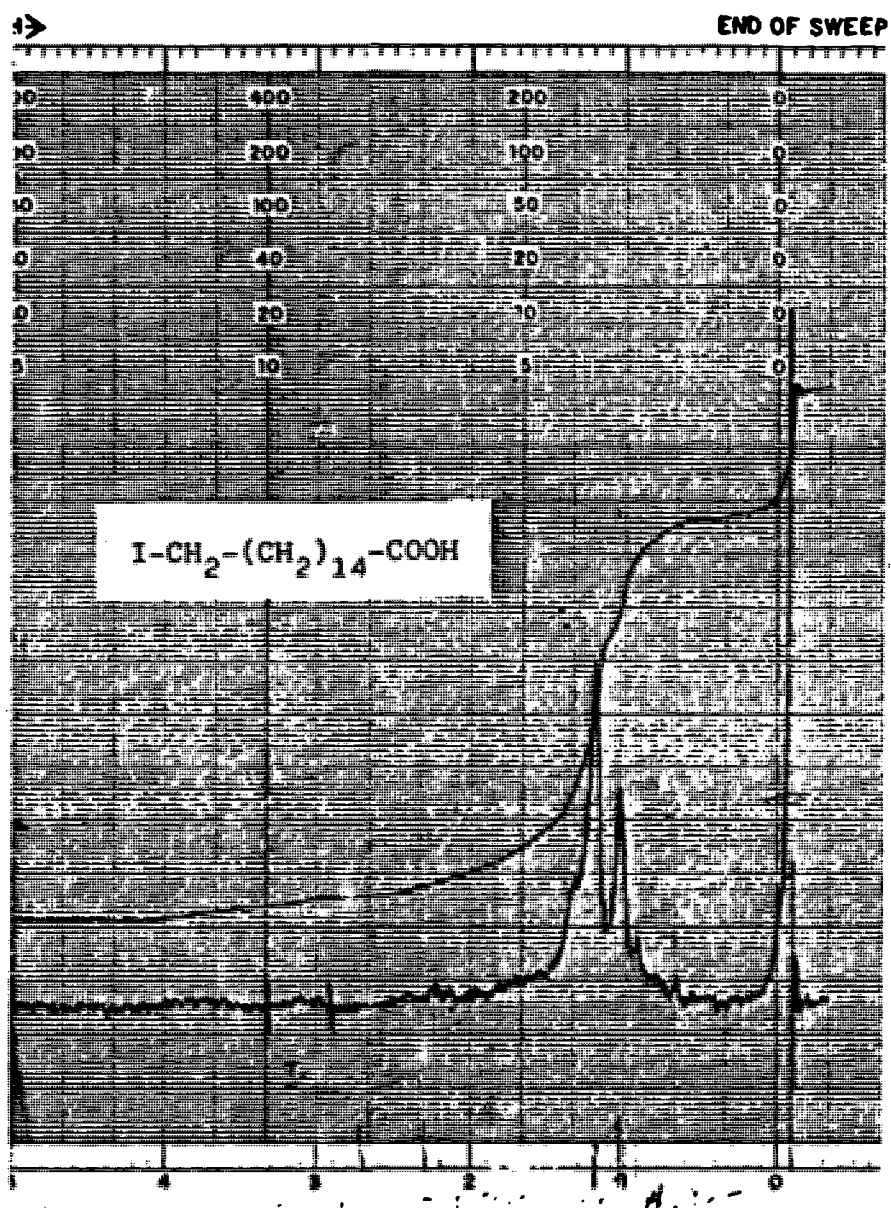


Figura 3 - Espectro de Ressonância Nuclear Magnética do Áci
do 16-Iodo-hexadecanóico.

O espectro de ressonância nuclear magnética apresentou os seguintes picos: (25,34)

(δ)	Grupamento
multipletos	
0,8 - 1,7 centrado a 1,2	-CH ₂ - da cadeia normal
2,2	-COOH-

4.2. Marcação

4.2.1. Determinação do Rendimento de Marcação

O resultado do rendimento de troca isotópica (RTI) foi determinado pela seguinte relação:

$$RTI = \frac{\text{radioatividade associada ao ácido graxo}}{\text{radioatividade total}} \times 100$$

A média do rendimento de troca isotópica obtida foi da ordem de 75%.

4.2.2. Controle Radioquímico

O teor de ¹³¹I⁻ livre foi menor que 5% no produto após ter sido purificado por eluição em coluna de resina de troca iônica.

4.3. Estabilidade do Composto Marcado

Em solução de albumina humana a 6%, armazenado em temperatura de 4 a 8° C, o produto permaneceu estável por 2 dias após dissolução. A estabilidade foi constatada por meio de eletroforese detectando-se a presença de $^{131}\text{I}^-$ livre, acima de 5% e por imagens cintilográficas realizadas em cães. (Fig. 10 e 10a).

Nestas condições a imagem cintilográfica mostrou captação do traçador pelo coração com distribuição homogênea, porém difusa, verificando-se que o radiofármaco já não está em condições adequadas para uso. A figura 10a mostra também que a relação de concentração do traçador entre os órgãos e a radiação de fundo é muito baixa, demonstrando que o radiofármaco está inadequado para cintilografia do miocárdio.

Por outro lado, o produto não dissolvido (seco), apresentou estabilidade maior, com um teor de $^{131}\text{I}^-$ livre menor que 5% até 4 dias após a marcação, quando então foi dissolvido em solução albumínica, conforme descrito em formulação farmacêutica. (Fig. 4).

4.4. Utilização em Cães e em Seres Humanos

As imagens sequenciais em cães e em humanos (Fig. 7 e 8) mostraram que o miocárdio normal acumulou e degradou rapidamente o radiofármaco.

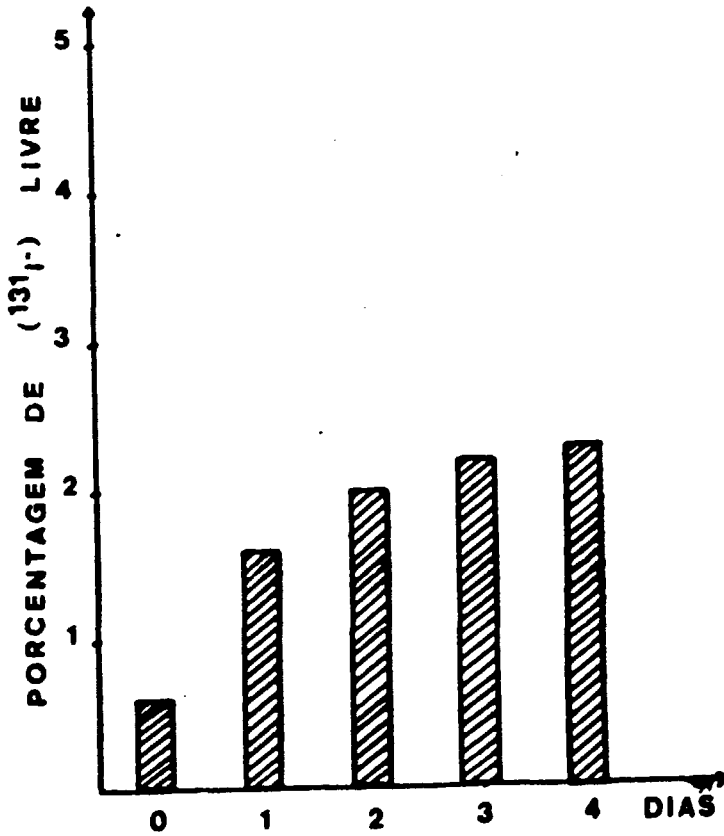


Figura 4 - Controle Radioquímico do Ácido 16-¹³¹I- hexadecanóico Armazenado Seco a Temperatura de 4 a 8° C. Eletroforese em Papel de Filtro Whatmann nº 1.

Em animais e indivíduos normais houve captação pelo fígado e coração com distribuição homogênea do traçador em ambos os órgãos. Sua concentração decresceu rapidamente nos 30 minutos iniciais, atingindo um máximo de concentração no coração entre 10 e 20 minutos.

Áreas infartadas não acumularam o radiofármaco. (Fig. 9). Nestes pacientes houve distribuição homogênea do traçador no fígado e heterogênea no coração com uma área de hipocaptação correspondente à área infartada.

Os dados cintilográficos mostraram que o tempo ideal de acúmulo de radiofármaco no miocárdio foi de 10 a 20 minutos após a administração da dose em pacientes humanos.

4.5. Distribuição Biológica

A Tabela I mostra os dados referentes à porcentagem de dose por grama de tecido, nos diversos órgãos, em tempos distintos.

Cada valor numérico corresponde à média de 4 animais.

Os resultados obtidos na distribuição biológica do radiofármaco em ratos, evidenciaram que além do miocárdio, o fígado é um importante local de β oxidação de ácidos graxos⁽²⁴⁾. Há também uma captação crescente de radioatividade nos órgãos com o tempo, devido ao acúmulo sanguíneo de iodeto radioativo livre e de produtos metabolizados.

Por outro lado, houve acentuada atividade na glândula tireóide devido a liberação do iodeto ($^{131}\text{I}^-$) resultante da rápida metabolização do ácido graxo marcado.

Os dados referentes ao músculo, mostraram uma captação mínima, demonstrando assim, baixa atividade metabólica do ácido graxo nesse tecido.

Com as amostras de sangue foi possível acompanhar os níveis plasmáticos do radiofármaco até 40 minutos após administração da dose. (Tabela II).

Construiu-se uma curva bifásica (Fig. 6), com um máximo de desaparecimento do traçador após 10 minutos. Passados 20 minutos, verificou-se que há certa estabilização de níveis de atividade no sangue devido ao efeito combinado do $^{131}\text{I}^-$ livre e produtos resultantes do metabolismo do traçador.

Devido à rápida metabolização do produto e a consequente liberação de $^{131}\text{I}^-$, foi necessária a percolação do plasma por resina de troca iônica para retenção do $^{131}\text{I}^-$ livre possibilitando a elaboração da curva referente a níveis plasmáticos reais⁽²⁷⁾.

TABELA I - Percentual da Atividade de Ácido 16-¹³¹I-hexadecanóico Absorvida em Órgãos de Ratos em Diversos Tempos

ÓRGÃOS	5 min.	10 min.	20 min.	30 min.
Coração	0,118 ± 0,039	0,459 ± 0,24	0,613 ± 0,052	0,757 ± 0,286
Fígado	0,086 ± 0,011	0,377 ± 0,138	0,798 ± 0,049	1,09 ± 0,27
Pulmão	0,108 ± 0,044	0,55 ± 0,204	0,711 ± 0,224	0,857 ± 0,221
Tireóide	0,833 ± 0,193	31,75 ± 15,65	58,5 ± 37,88	92,07 ± 27,93
Músculo	0,050 ± 0,036	0,135 ± 0,051	0,335 ± 0,244	0,99 ± 0,897
Coração/ Fígado	1,37	1,21	0,77	0,69

‡ dose/g tecido

média de 4 animais

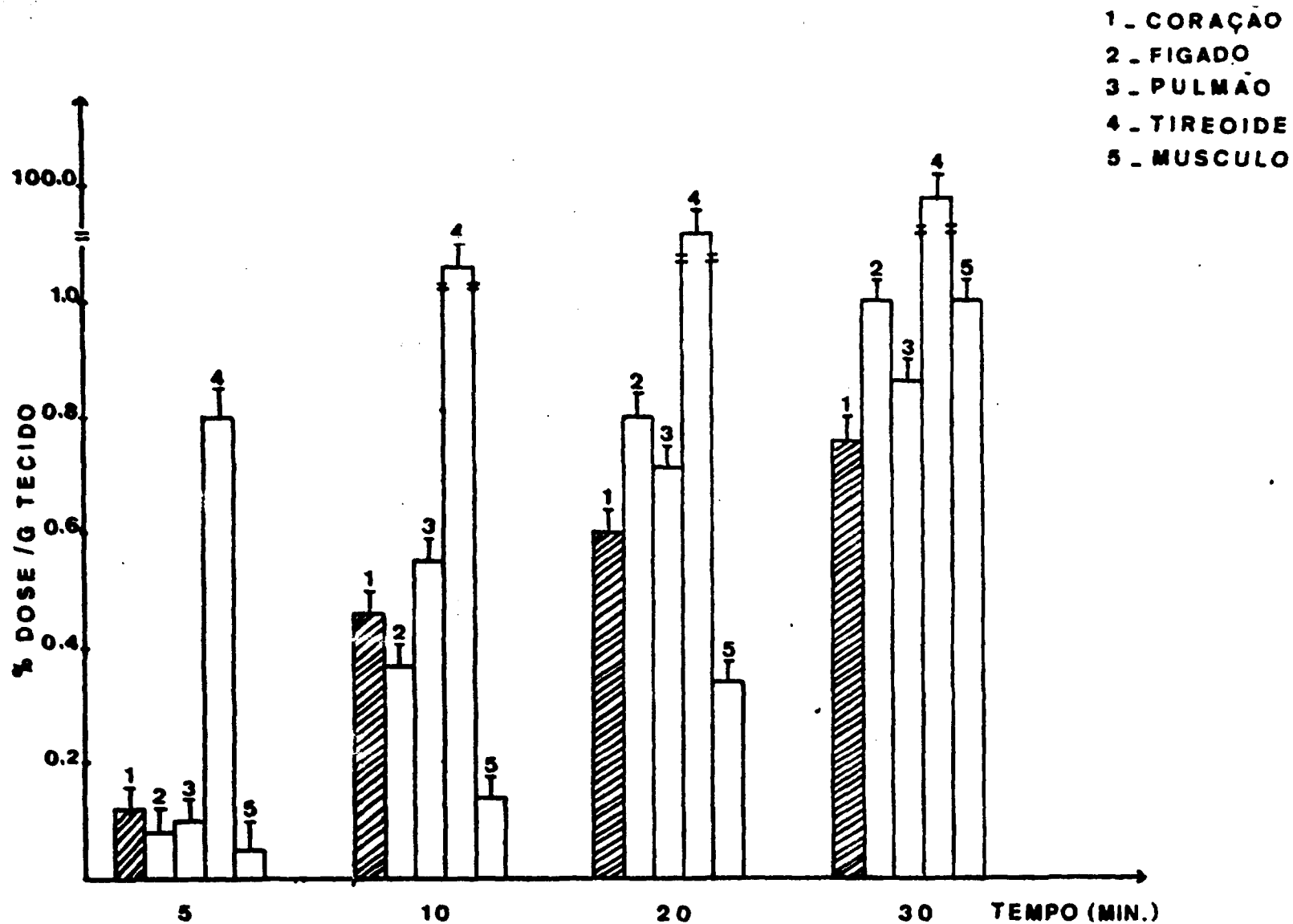


Figura 5 - Percentual da Atividade de Ácido 16-¹³¹I-hexadecanóico Absorvida em Órgãos de Ratos em Diversos Tempos.

TABELA II - Níveis Plasmáticos de Ácido 16-¹³¹I-hexadecanóico em Ratos Wistar até 40 Minutos Após Administração da Dose

μ dose/ml plasma

média de 3 ratos

Tempo	Média	Desvio Padrão
3 min.	0,139	0,038
5 min.	0,086	0,016
10 min.	0,043	0,002
15 min.	0,051	0,001
20 min.	0,067	-
25 min.	0,071	0,0004
30 min.	0,069	0,009
40 min.	0,097	0,008

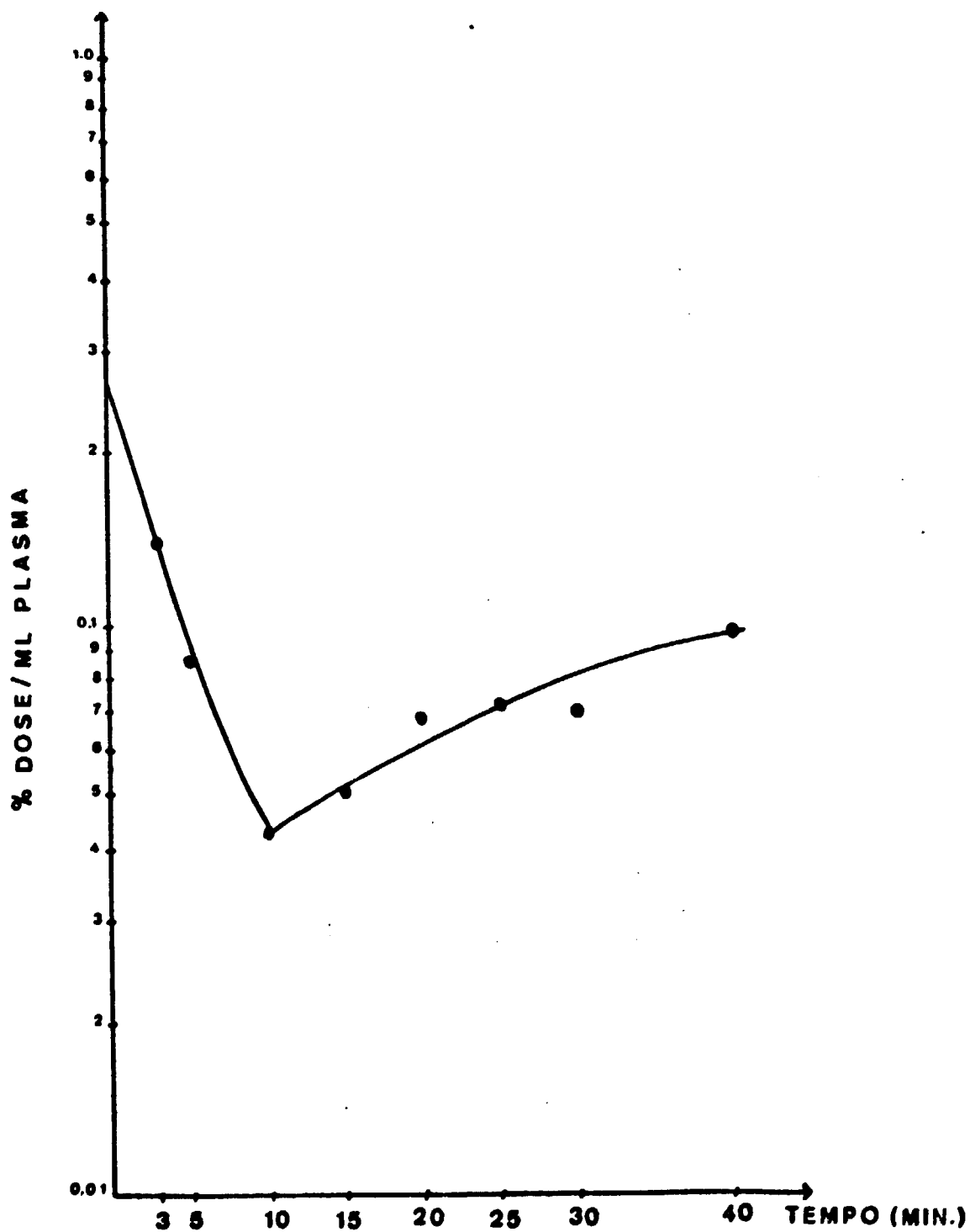


Figura 6 - Níveis Plasmáticos de Ácido 16-¹³¹I-hexadecanóico em Ratos Wistar, até 40 Minutos Após Administração da Dose.

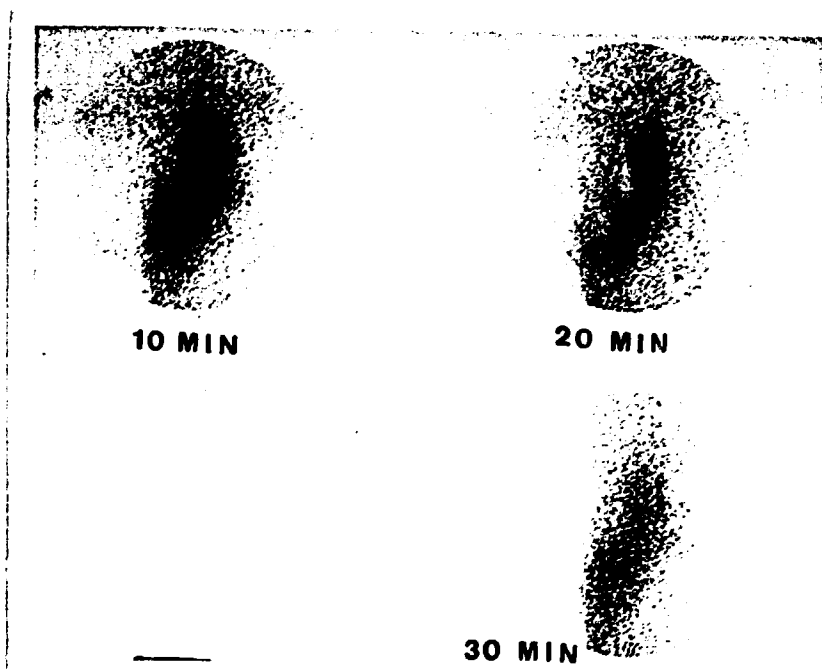


Figura 7 - Imagem Sequencial do Miocárdio aos 10, 20 e 30 Minutos Após Injeção Intravenosa de Ácido 16-¹³¹I-Hexadecanóico em um Cão Normal.

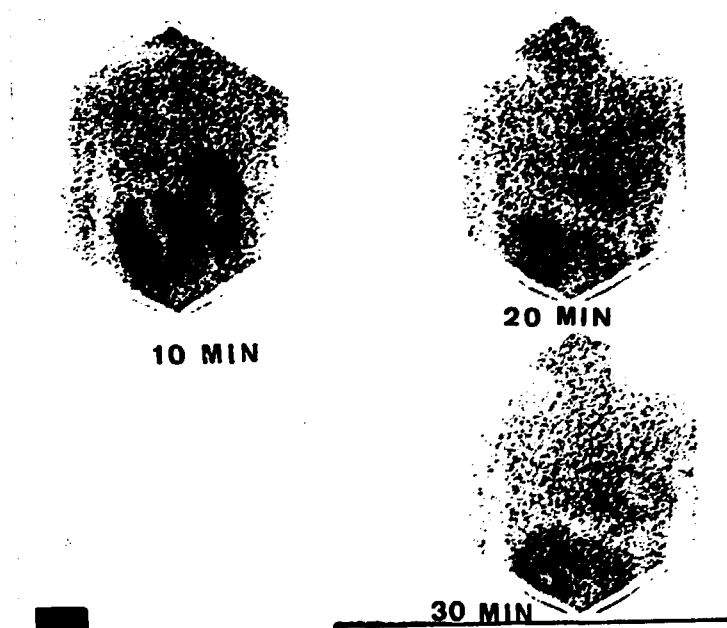


Figura 8 - Imagem Sequencial do Miocárdio aos 10, 20 e 30 Minutos Após Injeção Intravenosa de Ácido 16-¹³¹I-Hexadecanóico em um Indivíduo Normal.

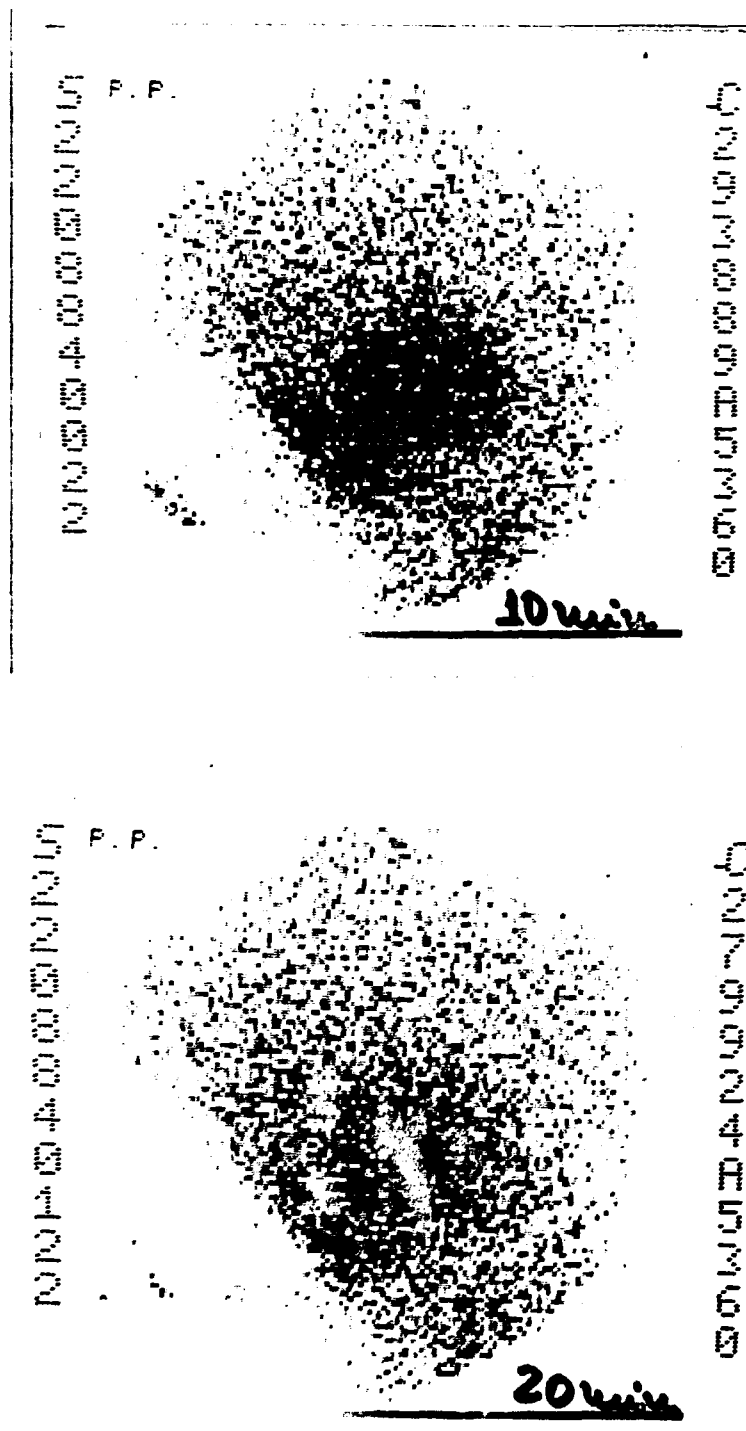


Figura 9 - Imagem Sequencial do Miocárdio aos 10 e 20 Minutos Após Injeção Intravenosa de Ácido $16\text{-}^{131}\text{I}\text{-Hexadecanóico}$ em Paciente com Infarto Agudo do Miocárdio.

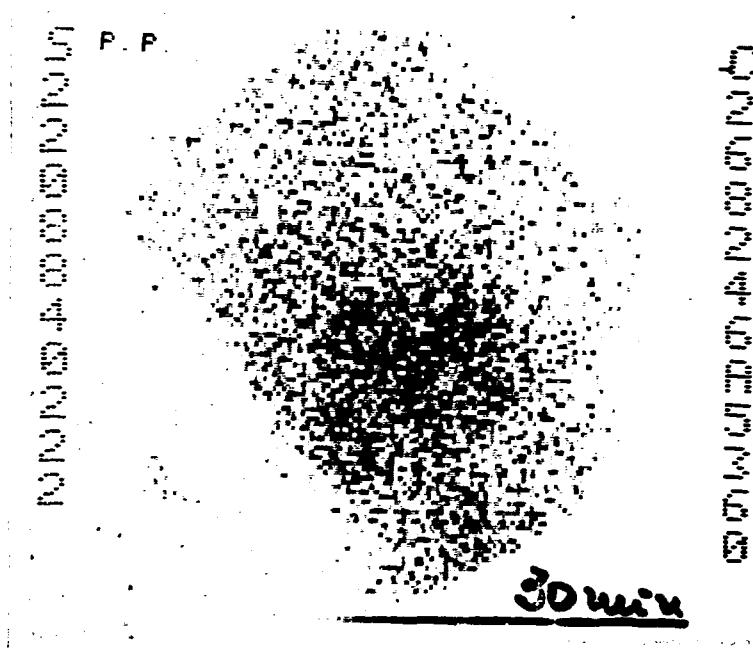


Figura 9 - Imagem Sequencial do Miocárdio aos 30 Minutos Após Injeção Intravenosa de Ácido 16-¹³¹I-Hexadecanóico em Paciente com Infarto Agudo do Miocárdio.

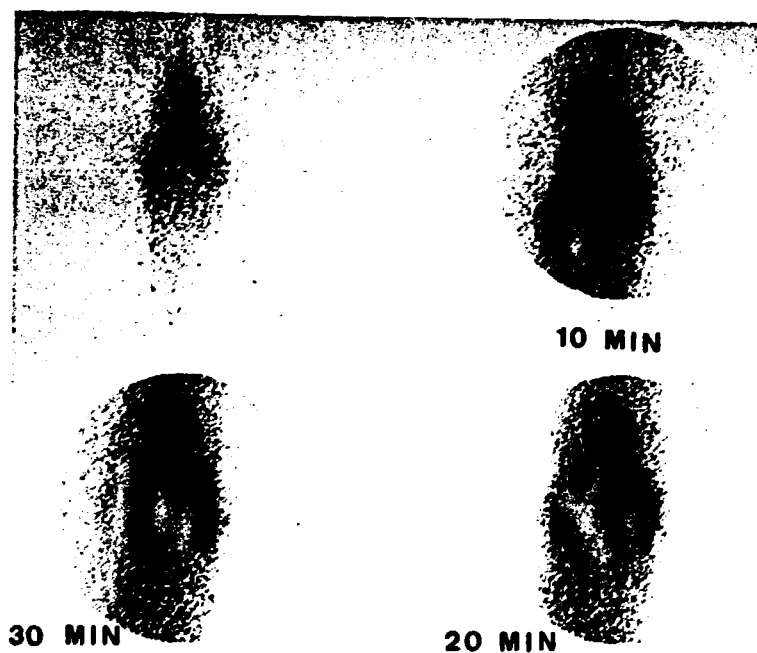


Figura 10 - Imagem Sequencial aos 10, 20 e 30 Minutos Após Injeção Intravenosa do Ácido $16\text{-}^{131}\text{I}$ -Hexadecanóico em Cão Normal. Produto em Meio Aquoso Após 17 Horas de Dissolução.

10 MIN



20 MIN.

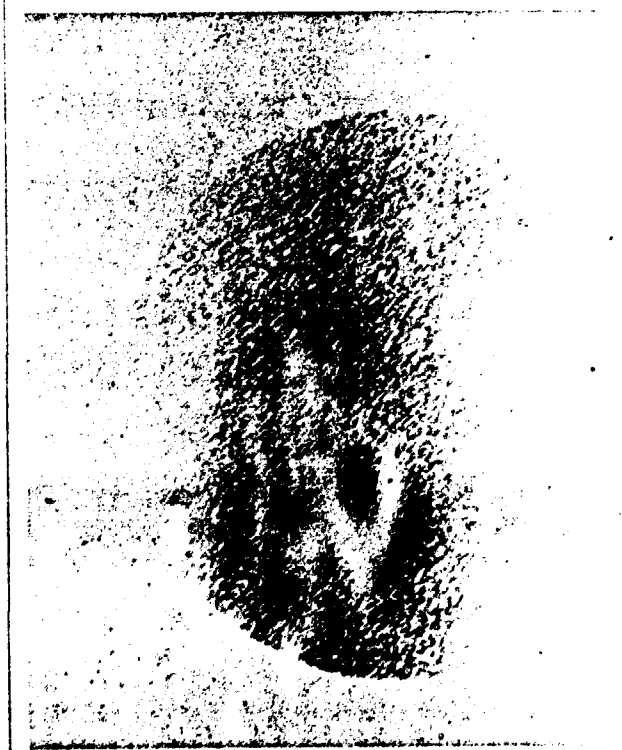


Figura 10a. - Imagem Sequencial aos 10 e 20 Minutos Após Injeção Intravenosa do Ácido $16\text{-}^{131}\text{I}$ -Hexadecanóico em Cão Normal. Produto em Meio Aquoso Após 48 Horas de Dissolução.

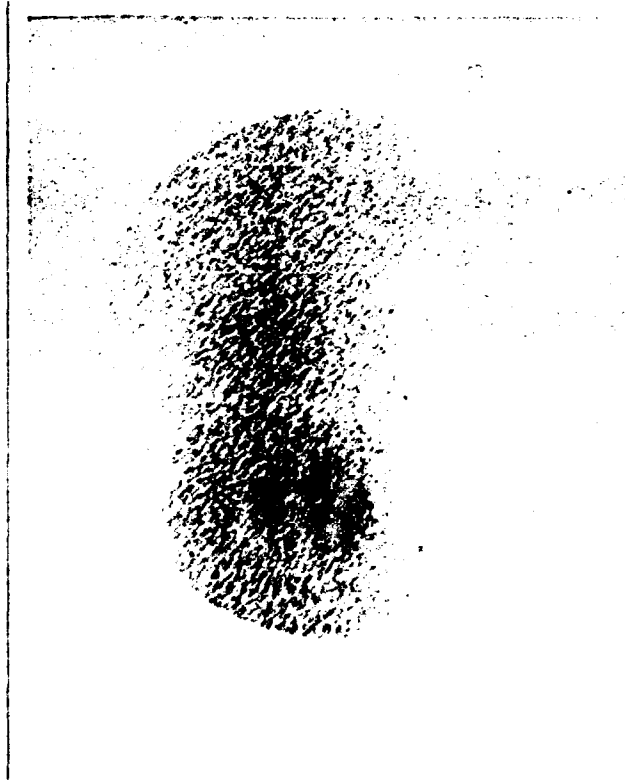


Figura 10a. - Imagem Sequencial aos 30 Minutos Após Injeção Intravenosa do Ácido 16-¹³¹I-Hexadecanóico em Cão Normal. Produto em Meio Aquoso Após 48 Horas de Dissolução.

5. DISCUSSÃO

Escolheu-se como um eventual substituto do tálcio-201 (cloreto de tálcio), de utilização restrita pelo elevado custo de importação, o ácido 16-¹³¹I-hexadecanóico para cintilografia do miocárdio.

Além das facilidades de preparação, preço acessível tem a vantagem de nos fornecer a imagem metabólica do músculo cardíaco.

Utilizou-se para a síntese do ácido graxo iodado na posição ω , a tosilação do ω -hidroxiácido correspondente, seguida de reação de troca do radical tosila (TsO^-) pelo iodeto (I^-), pois esse radical é facilmente trocável numa reação de substituição nucleofílica como neste caso^(1,21,31). Além do mais, os reagentes empregados são facilmente encontrados em nosso meio com um custo acessível.

É um método relativamente simples, e que nos dá um rendimento de síntese e de marcação satisfatórios para comercialização do produto.

Sob condições de preparação de rotina, torna-se importante não somente um alto rendimento na etapa de marcação, como também, em todo o processo de purificação.

O rendimento final dependeu de fatores que devido a sua simplicidade foram devidamente levados em consideração, evi

tando desse modo perda de radioatividade e melhorando o rendimento: volume da solução contendo o iodeto radioativo (Na^{131}I), condições de marcação, solubilização do produto na solução injetável e o tempo necessário para toda preparação⁽²⁰⁾. Em geral, o iodeto radioativo (Na^{131}I) é apresentado em solução aquosa, livre de redutor e carregador. De outro lado, os ácidos graxos são pouco solúveis em meio aquoso, por isso, a reação de marcação foi feita em um solvente orgânico polar, como a acetona. Assim, fez-se necessário evaporar a água da solução de Na^{131}I antes da marcação⁽²²⁾.

Da mesma forma, o preparo da solução de uso parenteral tornou-se muito dificultada pela pouca solubilidade do ácido 16-iodo-hexadecanóico em água. (7,2 μg desse ácido se dissolvem em 1 ml de água). Assim, houve alguma perda de atividade na etapa da filtração em Millipore para esterilização do produto, pois as partículas não dissolvidas ficaram retidas no filtro.

O problema da dificuldade de dissolução da amostra marcada foi minimizado utilizando-se pequena massa de ácido 16-iodohexadecanóico para marcação e solução de albumina humana como estabilizante.

Se por um lado os fótons de média energia (364 keV) do ^{131}I reduzem a sensibilidade da câmara de cintilação, por outro lado essa energia permite a construção da imagem do miocárdio praticamente livre de artefatos de atenuação, sempre presentes com os fótons de baixa energia do tálio-201.

O presente método abre uma nova perspectiva para o futuro emprego do iodo-123 no estudo da perfusão do miocárdio, visto ser um radioisótopo mais adequado para ser utilizado com a câmara de cintilação.

6. CONCLUSÕES

De acordo com as condições experimentais do trabalho podemos concluir que:

1. É possível sintetizar o ácido 16-iodohexadecanóico a partir do ácido 16-hidroxihexadecanóico, obtendo-se rendimentos satisfatórios.
2. Foi possível identificar os compostos sintetizados por meio de análises físico-químicas, espectroscópicas e cromatográficas.
3. O método de marcação por troca isotópica, o controle radioquímico e a distribuição biológica do ácido 16-¹³¹I-hexadecanóico podem ser considerados satisfatórios, quando comparados com a literatura^(24,32).
4. Verifica-se boa concentração de ácido 16-¹³¹I-hexadecanóico no músculo cardíaco, permitindo distinguir miocárdio normal e fibrótico. Sob este aspecto os estudos com o ácido 16-¹³¹I-hexadecanóico se assemelham aos estudos com o tálio-201 (²⁰¹Tl) em infartados⁽³⁶⁾.

5. A cinética do ácido 16- ^{131}I -hexadecanóico no miocárdio normal de ratos Wistar apresentou dados semelhantes aos da literatura para produtos similares⁽²⁴⁾.
6. A obtenção das imagens com (^{131}I), apesar de não serem ideais (como no caso de imagens com ^{123}I) apresentaram-se suficientemente úteis para diagnóstico em infartes do miocárdio.

Em vista dos dados obtidos podemos considerar o ácido 16- ^{131}I -hexadecanóico adequado para se estudar clinicamente os problemas que afetam o miocárdio, bem como a cinética e as trocas energéticas do órgão, representando assim um passo avan^{te} que pretendemos realizar a serviço da Radiofarmácia e da Me^{dicina} Nuclear no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARGENTINI, M.; ZAHNER, M.; SCHUBIGER, A.P. Comparison of several methods for the synthesis of w-iodine-123 heptadecanoic acid. J. Radioanal. Chem., 65:131-8 , 1981.
2. BARBERIO, S.C. Utilização de traçador radioativo no estudo farmaco cinético do 2,6-iodo-4-nitrofenol (Disofen - Disofenol). São Paulo, 1973. (Tese de Livre Docência, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo).
3. BAYLEY, R.J.; EVANS, E.A.; GLOVER, J.S. Synthesis of labeled compounds. In: TUBIS, M. & WOLF, W. Radio-pharmacy. New York, Wiley, 1976. p.303-22.
4. CARR JR., E.A.; BEIERWALTES, W.H.; WEGST, A.V.; BARTLETT, J.D. Myocardial scanning with rubidium-86. J. Nucl. Med., 3:76-82, 1962.
5. CARR JR., E.A.; GLEASON, G.; SHAW, J.; KRONTZ, B. The direct diagnosis of myocardial infarction by photo scanning after administration of cesium-131. Amer. Heart J., 68:627-36, 1964.
6. COELHO, A.P. Metabolismo de lipídeos. In: CANTAROW, A. & SCHEPARTZ, B. Bioquímica. São Paulo, Atheneu, 1969. p.498-506.

7. DUDCZAK, R. & HOFER, R. Myocardial scintigraph with ^{123}I - labeled fatty acids. Critical editorial. J. Radioanal. Chem., 79:329-36, 1983.
8. EL-SHABOURY, G. & EL-GARPHY, M. A rapid high specific activity method for labeling long chain fatty acids with iodine. J. Labelled Compd. Radiopharm., 19:1529-30, 1982.
9. EVANS, J.R. Cellular transport of long chain fatty acids. Can. J. Biochem., 42:955-69, 1964.
10. EVANS, J.R.; GUNTON, R.W.; BAKER, R.G. BEANLANDS, D.S.; SPEARS, J.C. Use of radioiodinated fatty acids for photoscan of heart. Circ. Res., 16:1-10, 1965.
11. FARMACOPÉIA brasileira. 3 ed. São Paulo, Andrei, 1977. p.993-4.
12. GOODMAN, W.S. de. The interaction of human albumin with long chain fatty acid anions. J. Amer. Chem. Soc., 80:3892-8, 1958.
13. HARRIS, P.; GLOSTER, J.A.; WARD, B.J. Transport of fatty acids in the heart. Arch. Mal. Coeur, 73(6): 593-8, 1980.
14. HURLEY, P.J.; COOPER, M.; REBA, R.C.; POGGENBURG, J.K.; WAGNER JR., N.H. ^{43}KCl a new radiopharmaceutical for imaging the heart. J. Nucl. Med., 12:516-9, 1971.

15. KABALKA, G.W.; GOOCH, E.E.; OTTO, C. Rapid synthesis of radioiodinated w-iodofatty acids. J. Radioanal. Chem., 65:115-21, 1981.
16. KLOSTER, G.; STOCKLIN, G.; SMITH, III E.F.; SCHROR, K. w-Halofatty acids: a probe for mitochondrial membrane integrity. In vitro investigations in normal and ischaemic myocardium. Eur. J. Nucl. Med., 9:305-11, 1984.
17. LAUFER, P.; MACHULA, H.; MICHAEL, H.; COENEN, H.H.; ELWETERY, A.S.; KLOSTER, G.; STOCKLIN, G. Preparation of w-¹²³I-labeled fatty acids by ¹²³I-for Br-exchange: comparison of three methods. J. Lab. Compd. Radiophar., 18:1205-17, 1980.
18. LEBOWITZ, E.; GREENE, M.W.; FAIRCHILD, R.; BRADLEY-MOORE, P.R.; ATKINS, H.L.; ANSARI, A.N.; BELGRAVE, E. Thallium-201 for medical use. J. Nucl. Med., 16:151-6, 1975.
19. LOVE, W.D.; SMITH, R.O. Focusing collimators for use with the hard gamma emitters rubidium-86 and potassium-42. J. Nucl. Med., 7:781-886, 1966.
20. MACHULA, J.H. & DUTSCHKA, K. Iodination methods for routine preparation of 17-¹²³heptadecanoic acid and 15-(¹²³-phenyl)-pentadecanoic acid. J. Radioanal. Chem., 65:123-30, 1981.

21. MACHULLA, H.J.; KNUST, E.J.; VYSTA, K. Radioiodinated fatty acid for cardiologycal diagnosis'. Appl. Radiat. Isot., 37(8):777-88, 1986.
22. MATHIEU, P.J.; RICHE, F.; COORNAERT, S.; BARDY, A.; BUSQUET, G.; GODART, J.; COMET, M. Marquage d'acides gras en position w par les isotopes de l'iode. J. Biophys. Med. Nucl., 6:233-7, 1982.
23. NEELY, R.J.; ROVETTO, J.M.; ORAM, F.J. Myocardial utilization of carboydrate and lipids. Prog. Cardiovasc. Dis., 15:289-329, 1972.
24. OTTO, A.C.; BROWN, E.L.; WIELAND, M.D.; BEIERWALTES, H.W. Radioiodinated fatty acid for myocardial imaging: effects of chain lenght. J. Nucl. Med., 22:613-8, 1981.
25. OTTO, C.; LEE, H.; MANGNER, T.; WIELAND, D. w-Iodophenyi fatty acids. A convenient method of radioiodination. Appl. Radiat. Isot., 37(3):205-10, 1986.
26. POE, N.D.; ROBINSON JR., G.D.; MACDONALD, N.S. Myocardial extraction of variously labeled fatty acid and carbo-xilate. J. Nucl. Med., 14:440, 1973.
27. POE, N.D.; ROBINSON, G.D.; GRAHAM, L.S.; MACDONALD, N.S. Experimental basis of myocardial imaging with ^{123}I -labeled hexadecenoic acid. J. Nucl. Med., 17:1077-82, 1976.

28. POE, N.D.; ROBINSON, G.D.; ZIELINSKI, F.W.; CABEEN, W.R. Myocardial imaging with ^{123}I -hexadecenoic. Radiology, 124:419-24, 1977.
29. RABINOVITCH, M.A.; KALFF, V.; ALLEN, R.; ROSENTHAL, A.; ALBERS, J.; DAS, S.K.; PITT, B.; SWANSON, D.P.; MANGNER, T.; ROGERS, W.L.; THRALL, J.H.; BEIERWALTES, W.H. ω - ^{123}I -hexadecanoic acid metabolic probe of cardiomyopathy. Eur. J. Nucl. Med., 10:222-7, 1985.
30. RESCKE, S.N.; SAUER, W.; MACHULLA, H.J.; KNUST, J.; WINKLER, C. Metabolism of 15 (p ^{123}I iodophenyl-) penta decanoic acid in heart muscle and noncardiac tissues. Eur. J. Nucl. Med., 10:228-34, 1985.
31. RICHE, F.; MATHIEU, J.P.; COORNAERT, S.; BARDY, A.; BUSQUET, G.; GODART, J.; COMET, M.; VIDAL, M. Fatty acids labeled with iodine-123 or 131 in ω -position, myocardial evolution. J. Lab. Compd. Radiopharm., 19: 1321-2, 1982.
32. RICHE, F.; MATHIEU, P.J.; BUSQUET, G.; VIDAL, M.; GODART, G.; COMET, M.; PERNIN, C.; BENABED, A.; BARDY, A. Étude biologique d'acides gras en C_{16} marqués par un atome radioactif. J. Biophys. Med. Nucl., 7:87-95, 1983.

33. RICHE, F.; MATHIEU, P.J.; COMET, M.; VIDAL, M.; PERNIN, C.; BATLEMARTI, D.; BUSQUET, G.; BARDY, A. Influence de la longueur de la chaîne et du nombre pair ou impair d'atomes de carbone sur le comportement biologique des acides gras iodés. J. Biophys. Med. Nucl., 7:97-106, 1983.
34. SADTLER standard spectra. Standard infrared prism spectra. Philadelphia, Sadler Research Lab., 1962. v.7, p.7101.
35. USA. PHARMACOPEIAL CONVENTION. The pharmacopeia of the United States of America. Washington, D.C. 17-19, 1980, official from January 1, 1985. p.1181-2.
36. WALL, E.E. Van der; HEIDENDAL, G.A.K.; HOLLANDER, W. den.; WESTERA, G.; ROOS, J.P. ^{123}I -labeled hexadecenoic acid in comparison with thallium-201 for myocardial imaging in coronary heart disease. Eur. J. Nucl. Med., 5:401-5, 1980.
37. WILLIAMS, D. & FLEMING, I. Spectroscopic methods in organic chemistry. London, McGraw-Hill, 1973. p.35-73.