

## Tesis de Posgrado

# Influencia de la estructura química en el comportamiento biológico de un radiofármaco

Argüelles, María Graciela

1988

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Argüelles, María Graciela. (1988). Influencia de la estructura química en el comportamiento biológico de un radiofármaco. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2140\\_Arguelles.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2140_Arguelles.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Argüelles, María Graciela. "Influencia de la estructura química en el comportamiento biológico de un radiofármaco". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1988. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2140\\_Arguelles.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2140_Arguelles.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

INFLUENCIA DE LA  
ESTRUCTURA QUIMICA EN EL  
COMPORTAMIENTO BIOLOGICO  
DE UN RADIOFARMACO

MARIA GRACIELA ARGÜELLES

-1988-

Trabajo realizado en la Comisión Nacional de Energía  
Atómica bajo la dirección del Prof.Dr.Aldo E.A.Mitta

Tesis presentada para optar al título de Doctor en  
Ciencias Químicas

2140

A mis seres queridos

**AGRADECIMIENTOS**

## AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer al Prof.Dr. Aldo E.A.Mitta el haber aceptado la dirección de esta tesis y el haberme guiado en todo momento y a la Dra. Ana M. Ferramola de Sancovich, Consejera de Estudios, su orientación y apoyo.

Al Subprograma de Medicina Nuclear y a las autoridades de la Comisión Nacional de Energía Atómica, por haberme permitido la realización de este trabajo.

A la Cátedra de Radiosótopos del Departamento de Física de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Buenos Aires, así como al Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Buenos Aires.

A los Servicios de Medicina Nuclear del Hospital Ramos Mejía y del Hospital de Clínicas "José de San Martín" de la Ciudad de Buenos Aires, por su valioso aporte en lo relativo al tema médico.

A mis compañeros del Laboratorio de Moléculas Marcadas y en especial al Dr Carlos Cañellas del Laboratorio de Radiofarmacología, de la CNEA, por su generosa colaboración.

Al Lic.Guillermo Drexler por su aporte en la confección del programa de computación.

Por último vaya mi agradecimiento para todos aquellos amigos que me alentaron y aconsejaron en esta labor, en especial a la Lic. María G. Noto y a mi marido, el Lic. Carmelo Rocco.

Este trabajo fue realizado con la colaboración del Contrato de O.I.E.A. 3338/RB.

INDICE

INTRODUCCION GENERAL.....	2
NOCIONES DE FISICA NUCLEAR.....	15
1.DESINTEGRACION RADIATIVA.....	15
1.1.Tipos de desintegración radiactiva.....	16
1.1.1.Desintegración alfa.....	16
1.1.2.Desintegración beta.....	16
1.1.3.Desintegración por captura electrónica.....	17
1.1.4.Desintegración por neutrones.....	17
1.1.5.Desintegración gamma e isomería.....	18
1.2.Leyes de desintegración radiactiva.....	18
1.2.1.Mezcla de nucleídos activos sin relación genética entre sí.....	19
1.2.2.Mezcla de nucleídos activos con relación genética entre sí.....	20
1.2.3.Equilibrio transitorio, relación de actividades madre-hija.....	22
1.2.4.Equilibrio secular, relación de actividad madre-hija.....	23
2.INTERACCION DE LA RADIACION ELECTROMAGNETICA CON LA MATERIA.....	25
2.1.Efecto fotoeléctrico.....	25
2.2.Efecto Compton.....	26
2.3.Formación de pares.....	27
3.MEDICION DE LA RADIACION GAMMA.....	27
TECNECIO.....	33
1.CARACTERISTICAS GENERALES.....	33
2.CINETICA DEL SISTEMA Mo-99/Tc-99m.....	34
3.PRODUCCION DE Mo-99.....	36
3.1.Métodos de separación de Tc-99m y Mo-99.....	37
3.1.1. El generador cromatográfico.....	37
3.1.2.El generador de sublimación.....	38
3.1.3.El generador por extracción con solvente.....	39
4.REDUCCION DEL TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup> .....	39
5.LIGANDOS.....	40
6.FORMACION DEL COMPLEJO.....	41
7.QUIMICA DEL TECNECIO (V).....	41
8.QUIMICA DEL TECNECIO (IV).....	42
9.QUIMICA DEL TECNECIO (III) Y (I).....	42
10.RADIOFARMACOS DEL TECNECIO.....	44

10.1.Complejos aniónicos.....	44
10.2.Complejos catiónicos.....	45
10.3.Complejos neutros lipofílicos.....	45
11.COMPLEJOS DEL Tc-99m CON EL ACIDO IMINODIACETICO N-SUSTITUIDO.....	46
RELACION ENTRE LA ESTRUCTURA Y LA EXCRECION DE DROGAS	54
1.TRANSPORTE PASIVO.....	54
2.TRANSPORTE ACTIVO.....	54
3.REABSORCION.....	55
4.EXCRECION DE DROGAS EN LA BILIS.....	55
HIGADO Y VESICULA BILIAR.....	59
1.FISIOLOGIA HEPATICA.....	59
2.FISIOLOGIA DE LAS VIAS BILIARES.....	62
3.REGULACION DE LA SECRECION HEPATOBILIAR.....	63
4.FARMACOCINETICA DE LOS AGENTES DE VISUALIZACION HEPATOBILIAR.....	65
MATERIALES Y METODOS.....	67
1.INSTRUMENTAL.....	68
2.MODELOS BIOLOGICOS.....	69
2.1.Ratones.....	69
2.2.Ratas.....	69
2.3.Conejos.....	69
3.N-DERIVADOS DEL ACIDO IMINODIACETICO.....	69
3.1.Síntesis y control.....	69
4.FORMACION DEL COMPLEJO N-DERIVADO DEL ACIDO IMINO- DIACETICO-Tc-99m.....	78
4.1.Agente reductor.....	78
4.1.1.Control del poder reductor.....	78
4.2.Pertecneciato de sodio(Tc99m).....	78
4.2.1.Control de la elución.....	78
4.2.1.1.Determinación de Mo-99.....	78
4.2.1.2.Determinación de ión aluminio.....	81
4.3.Marcación.....	81
4.4.Determinación de la pureza radioquímica del complejo.....	81
5.DETERMINACION DE LA DOSIS A ADMINISTRAR.....	83
5.1.Elección del modelo experimental.....	83
5.1.1.Condiciones de trabajo.....	83
5.1.2.Análisis de los resultados.....	84
6.TOXICIDAD AGUDA.....	84
6.1.Elección del modelo experimental.....	84
6.1.1.Condiciones de trabajo.....	84
7.ESTUDIOS FARMACOLOGICOS.....	86
7.1.Esterilidad.....	86
7.2.Sustancias piretógenas.....	86



8.CINETICA PLASMATICA.....	87
8.1.Modelo biológico utilizado.....	87
8.2.Análisis de las componentes.....	97
9.DETERMINACION DE LA BIODISTRIBUCION.....	108
9.1.Elección del modelo biológico.....	108
9.2.Metodología.....	108
10.RUTAS METABOLICAS.....	112
10.1.Elección del modelo biológico.....	112
10.2.Obtención de la bilis y orina para la reinyección.....	112
11.PODER LIPOFILICO.....	113
12.USO EN SERES HUMANOS.....	113
12.1.Mebrofenin.....	113
12.1.1.Metodología.....	114
12.2.HIDA 10.....	114
12.2.1.Metodología.....	114
RESULTADOS.....	118
1.CONTROL DE LOS N-DERIVADOS DEL ACIDO IMINODIACETICO	119
2.FORMACION DELCOMPLEJO.....	119
2.1.Control de la solución reductora.....	119
2.2.Control de la solución de pertecn eciato de sodio	119
2.2.1.Determinación de Mo-99.....	119
2.2.2.Determinación de ión aluminio.....	133
2.3.Pureza radioquímica del bis complejo.....	133
3.DETERMINACION DE LA DOSIS A ADMINISTRAR.....	133
3.1.Determinación de la dosis letal cincuenta.....	133
3.2.Dosis a administrar en seres humanos.....	133
4.DETERMINACION DE LA TOXICIDAD AGUDA.....	133
5.ESTUDIOS FARMACOLOGICOS.....	133
5.1.Esterilidad.....	133
5.2.Sustancias pirogénicas.....	147
6.CINETICA PLASMATICA.....	147
7.BIODISTRIBUCION.....	147
8.RUTAS METABOLICAS.....	147
9.PODER LIPOFILICO.....	184
10.USO EN SERES HUMANOS.....	195
10.1.Mebrofenin.....	195
10.1.1.Análisis dualitativo.....	195
10.1.2.Análisis cuantitativo.....	195
10.2.HIDA 10.....	201
10.2.1.Análisis cualitativo.....	201
10.2.2.Análisis cuantitativo.....	204

DISCUSION.....	207
CONCLUSIONES.....	211
BIBLIOGRAFIA.....	213

INTRODUCCION GENERAL

Relatar los comienzos de la Medicina Nuclear es trazar la convergencia de muchas otras disciplinas con la medicina, es también ilustrar la interdependencia de la ciencia básica, la medicina y la tecnología.

La historia comienza en 1895 cuando el físico alemán Röntgen descubre que ciertos cristales colocados cerca de un tubo de descarga eléctrica evacuado, producían luminiscencia cuando el tubo se colocaba en una caja a prueba de luz. El efecto podía ser observado interponiendo objetos entre el tubo y los cristales, pues éstos producían sombra. Röntgen atribuyó el fenómeno a radiación invisible, que por su naturaleza desconocida llamó rayos X, que ionizaba el aire a su paso y sensibilizaba emulsiones fotográficas.

Dos meses después el físico francés Henri Becquerel se encontraba estudiando el fenómeno de fosforescencia inducida en el vidrio de un tubo vacío durante la producción de rayos X y esto le sugirió que el fenómeno de fosforescencia, aún de materiales naturales expuestos a la luz, podía asociarse a la producción de rayos X.

Colocó una sal fosforescente de uranio sobre un envoltorio conteniendo una placa fotográfica y lo expuso a los rayos solares. Cuando desenvolvió la placa encontró puntos negros donde había estado la sal y razonó que se debía a "rayos X" excitados por el sol. Durante varios días lluviosos interrumpió sus experimentos y guardó su equipo en un armario. Y así, sorprendido, comprobó que aparecían áreas oscuras donde había estado la sal de uranio. Concluyó que las sales de uranio daban rayos X penetrantes aún en su estado normal, no excitado. Había sido descubierta la radiactividad.

A la sazón Becquerel dirigía el departamento de Física de la Escuela Politécnica de París, donde se distinguía una joven científica polaca, Marie Sklodowska, esposa de Pierre Curie, gran amigo de Becquerel. Este le sugirió a Marie, para su disertación doctoral, la investigación de esta radiación que él había observado. Marie Curie sugirió inmediatamente el término "radiactividad" y se propuso estudiarlo a través del fenómeno piezoeléctrico, descubierto por su marido. La pareja fue capaz de demostrar radiactividad, no sólo en el uranio, sino en el thorio y comenzó a observar que estas radiaciones no eran rayos X, sino otros más energéticos y penetrantes.

Probando con pechblenda, por su contenido en uranio, encontraron que algunas muestras era aún más radiactivas que el uranio puro, por lo tanto estarían presentes otras especies radiactivas. A través de laboriosas separaciones químicas

cas, aislaron en julio de 1898, trazas de un elemento con una radiactividad 400 veces mayor que la del uranio. Le llamaron polonio, meses después aislaron otro elemento, el radio.

La primera demostración de los efectos biológicos de estas radiaciones, mucho antes de la muerte de Marie por leucemia, se produjo en el propio Becquerel, en 1901, cuando comprobó que una muestra de radio, transportada en su bolsillo había provocado un enrojecimiento en la piel de su abdomen.

Las primeras aplicaciones médicas del radio se realizaron unos pocos años más tarde. Esto se debió a que los penetrantes rayos gamma del radio, descubiertos por Villard en 1900, podían tener, tal como los rayos X, un efecto destructivo tanto en cáncer como en tejidos normales.

Mientras que en Francia se producía el descubrimiento de la radiactividad natural, los científicos ingleses comenzaban a identificar los componentes constituyentes del átomo. Thomson identificó los electrones, en 1897, como una partícula cargada negativamente con una masa aproximadamente 2000 veces más pequeña que el más pequeño de los átomos, el hidrógeno. Postuló que el electrón debía ser un constituyente de los átomos, indicando que el átomo no era indivisible como había sugerido Dalton un siglo antes. En 1911 Rutherford demostró que la masa de un átomo está concentrada en un núcleo denso, cargado positivamente. Junto con Soddy describió la radiactividad como un proceso que involucraba la desintegración espontánea de los átomos.

Junto con los Curie y Villard fueron capaces de identificar, por su comportamiento en campos magnéticos, los tres tipos distintos de emisiones radiactivas: 1) partículas alfa, cargadas positivamente, idénticas a núcleos de helio, 2) partículas beta, consistentes de electrones negativos y 3) radiación electromagnética, no particulada y altamente penetrante, rayos gamma.

Por aquel entonces, 1913, Hevesy y Paneth en Viena, hicieron los primeros experimentos con un "indicador" radiactivo.

En la época, para la detección de la radiactividad se recurría al fenómeno piezoeléctrico usado por los Curie. La placa fotográfica, gracias a la cual se descubrió la radiactividad, subsecuentemente constituía una evidencia positiva de la presencia y localización de las radiaciones, y fue usada con gran imaginación. Un simple, pero ingenioso instrumento, de gran importancia histórica, fue el spintariscopio, inventado por Crookes en 1903, en el que los pequeños destellos producidos por las emisiones radiactivas en una pantalla de sulfuro de zinc pueden visualizarse por un microscopio y contarse.

La cámara de niebla, inventada por el escocés Wilson en 1895, también jugó un rol importante. Consistía en un reci-

piente de vidrio cerrado con un pistón lleno de aire saturado de humedad. Cuando el pistón se elevaba súbitamente, el aire expandido abruptamente, se enfriaba y sobresaturaba. Las partículas cargadas o los rayos gamma que atraviesan la cámara producen ionización de los átomos dejando un trazo de vapor o niebla fácilmente visible. El tamaño y carácter de los trazos, su curvatura y respuesta a los campos magnéticos, revelan la naturaleza, masa y energía de la radiación.

Otro instrumento simple, pero muy útil fue, y sigue siendo, el electroscopio de hojas de oro. Aquí una delgada hoja de oro, adherida a una varilla de metal aislada, es repelida electrostáticamente de la varilla cuando se aplica una pequeña carga eléctrica y la velocidad o grado de retorno de la hoja hacia la varilla refleja la intensidad de la descarga. Esto sirvió como una forma de medir la ionización inducida por una fuente radiactiva colocada cerca del instrumento. El contador ideado por el alemán Hans Geiger, y perfeccionado por Müller en 1928, consiste en un filamento metálico dentro de un tubo lleno de gas y cuando se aplica un potencial fuertemente positivo al filamento, el cilindro actúa como polo negativo. En estas condiciones, las radiaciones que ingresan al tubo o cámara producen pares de iones entre el filamento y el cilindro; el campo eléctrico los acelera lo suficiente como para producir una avalancha de ionización secundaria que resulta en una corriente en el circuito que puede ser amplificada y medida.

Cuando Hevesy y Paneth usaron los "indicadores" radiactivos se valieron del electroscopio de hoja de oro. Las mediciones de la radiactividad de los trazadores incrementaba en miles de veces la sensibilidad y exactitud con respecto a los ensayos químicos existentes; esto fue explotado diez años después por Hevesy en el seguimiento de un radioisótopo natural del plomo para investigar el metabolismo del plomo en las plantas. Midiendo el radioelemento acumulado en varias porciones de la planta podía cuantificar la captación de plomo en ella. Tan sensible era su electroscopio que pudo usar el radioplomo en cantidades tan pequeñas que no resultaban tóxicas para la planta, siendo éste el principio básico en la metodología con trazadores.

Hevesy demostró fundamentalmente que los átomos radiactivos pueden usarse como trazadores representativos de los átomos estables de un mismo elemento a los cuales acompañan en todos los procesos de los sistemas biológicos, sin afectar sus propiedades bioquímicas. Esto sentó una base importante para la Medicina Nuclear y Hevesy puede ser considerado el padre de esta disciplina.

En este período sus estudios estaban limitados a pocos elementos naturales radiactivos: radioisótopos del uranio, thorio, radio, polonio, bismuto y plomo, elementos que no eran de gran importancia biológica.

El creciente conocimiento de la naturaleza del átomo y el comportamiento de sus radiaciones, hizo que pronto se encontrara la manera de producir trazadores radiactivos de muchos elementos. Entre los más importantes podemos mencionar el descubrimiento hecho por Rutherford en 1919 de que la estructura de la materia podía cambiarse por bombardeo de los elementos con partículas alfa de radio.

Para que las partículas alfa cargadas positivamente entrasen en un núcleo atómico, debían tener una enorme energía y velocidad para superar la fuerte repulsión de la carga positiva nuclear, la barrera coulombiana. Para esto se necesitaban voltajes suficientemente grandes pero se encontraba con el inconveniente de tener que aislar tales voltajes y además la necesidad de contar con el espacio necesario para alojar un camino lineal. Esto se resolvió cuando Ernest Lawrence concibió que un gran número de aceleraciones se podían aplicar si un proyectil nuclear positivo se guiaba por un poderoso campo magnético y fuerza centrífuga en un camino espiral dentro de dos electrodos huecos semicirculares, entre los cuales se aplicaban voltajes de polaridad alternante. Esto circunscribía el problema de la aislación y el resultado fue el ciclotrón inventado por Lawrence en 1931. Como consecuencia de este invento surgió la radiactividad artificial. Lawrence descubrió que acercando un contador Geiger al ciclotrón, después de su funcionamiento, algunos blancos estaban radiactivos. Sin embargo, no fue él sino Irene Curie y Frederic Joliot quienes demostraron que el bombardeo nuclear podía inducir transmutaciones de algunos elementos livianos a formas radiactivas de otros elementos y así fue que, en 1934, publicaron los resultados de la transmutación de boro en radionitrógeno-13 y aluminio en radiofósforo-30.

Con este descubrimiento finalizó la etapa clásica de la Medicina Nuclear, que registraba un antecedente en la década del veinte, cuando Blumgart y colaboradores, en Boston, inyectaban soluciones de radio C (Bi-214) en un brazo y detectaban la aparición de rayos gamma en el otro brazo, constituyendo los primeros estudios clínicos, para el estudio de la velocidad de circulación.

Con el advenimiento del ciclotrón apareció la posibilidad de producción de una gran variedad de radioindicadores, ya que prácticamente todo elemento puede bombardearse en el ciclotrón para generar varios isótopos radiactivos.

Además esto fue acompañado con el descubrimiento de otras partículas con mayor poder de penetración que las alfa.

Urey descubrió los deuterones, núcleos de hidrógeno pesado, en 1931, éstos fueron acelerados por Lawrence en su ciclotrón en 1934 para la producción de radiactividad artificial. Chadwick identificó el neutrón en 1932. Como resultado de su falta de carga fue usado por Fermi, en Roma, en 1934, para penetrar muchos blancos atómicos en el descubrimiento inicial de varios de los trazadores usados actual-

mente en Medicina Nuclear.

Lawrence y sus colaboradores desarrollaron series de máquinas cada vez más grandes, hasta llegar a lo que el propio Lawrence denominó ciclotrón médico.

En Europa, Hevesy junto con Chiewitz, en 1935, informaron sobre el primer y ya clásico estudio de un indicador de un elemento fisiológico en un sistema animal. Con P-32, como fosfato de sodio, alimentaron ratas, mezclándolo en una proporción conocida con fósforo inactivo. Con un contador Geiger estudiaron la captación de P-32 en varios órganos y tejidos. Con estos estudios llegaron al conocimiento que "la formación de los huesos es un proceso dinámico, el hueso toma constantemente átomos de P que luego se pierden y son reemplazados nuevamente". Esto fue el nacimiento del concepto de estudio dinámico de los constituyentes del cuerpo.

A éste siguieron otros estudios de varios investigadores sobre el metabolismo del fósforo. Esto llevó a John Lawrence, en 1936, a utilizar el P-32 para el tratamiento de la leucemia, iniciando el empleo terapéutico de los radioisótopos artificiales.

Los estudios de la función tiroidea tienen como antecedente la preparación de un radioisótopo del yodo hecho por Fermi en 1934, en Italia. Las primeras pruebas, en conejos se realizaron en Boston, por Hertz, Roberts y Evans, en 1937; utilizaron I-128. Pero éste era un radionucleído de 25 minutos de período, lo cual traía limitaciones y problemas logísticos.

Es así que los esfuerzos de Livingood y Seaborg consiguieron, trabajando en ciclotrón, un yodo de 8 días de período, el I-131, que se convirtió en el primer radioindicador de mayor uso en el diagnóstico en Medicina Nuclear.

También se comenzó a usar en el tratamiento de hipertiroidismo como método alternativo o coadyuvante de la cirugía. Este concepto fue aplicado en 1940 por John Lawrence y Hamilton, en Berkeley; y por Hertz, Roberts Chapman y Evans en Boston. En 1943-46 fue usado para el tratamiento del cáncer de tiroides. Más tarde los estudios refinaron las técnicas y proveyeron métodos para aumentar la captación de dosis destructivas de I-131 para algunos cánceres funcionales de tiroides.

Estos procedimientos dramáticos, cuyas noticias fueron exageradas por el término "cocktail atómico" aplicado a la dosis oral de este verdadero "Radiofármaco", generó un gran debate público en los años 40.

En 1943 Hevesy recibió el premio Nobel por el concepto de indicadores radiactivos. La demanda de materiales nucleares en medicina aumentó grandemente y los ciclotrones médicos no daban abasto. Durante la guerra los esfuerzos y el genio de Fermi produjeron el primer reactor nuclear en 1942.

El reactor nuclear se constituyó en una fuente rica de neutrones con los que se generaron gran variedad de radio-



isótopos en gran cantidad y bajo costo.

La era de la Medicina Nuclear moderna comenzó con un anuncio en 1946, en Science, que aseguraba que los isótopos radiactivos estaban disponibles para la distribución pública.

Oak Ridge y más tarde el Laboratorio Nacional de Brookhaven fueron los centros donde se generaban los radioisótopos artificiales, en calidad y variedad tales que algunos tuvieron que esperar años para ser experimentados y aplicados a la medicina.

Uno de ellos fue el Co-60, de mejores características que el radio, por tener emisión gamma homogénea, poseer beta menos energética y poder confinarse con mayor eficacia y seguridad para el personal ocupacionalmente expuesto; fue utilizado por primera vez para el tratamiento del cáncer en 1948. Otro tanto ocurrió con el Tc-99m, que había sido creado por Segré y Seaborg, en 1938, en el ciclotrón de Berkeley. Sin embargo, tuvo que esperar más de dos décadas hasta que el desarrollo de la radiofarmacia y de la instrumentación tornaran propicio su uso y lo convirtieran en lo que es en la actualidad: el radionucleído más ampliamente utilizado en el diagnóstico por imágenes.

El I-125, descubierto por Reid y Keston en 1946, fue introducido en la Medicina Nuclear por Vanderleeden, en 1959. Por su prácticamente total emisión de rayos X y gamma, su ausencia de partículas beta y su período conveniente de 60 días, reemplazó rápidamente al I-131 para la mayoría de las aplicaciones de diagnóstico in vitro y continúa siendo usado para la imagen de tiroides de alta resolución.

Subsecuentemente se vió la necesidad de contar con un detector externo más adecuado que el de Geiger, capaz de detectar y medir la captación en órganos y sistemas, disponiendo de una resolución espacial que permitiera obtener imágenes que reflejaran su estructura y función.

La captación relativa del radioiodo en la tiroides y en metástasis distantes fue llevada a cabo con un "scanner" o rastreador prototipo, consistente en un contador Geiger dirigido para el conteo punto por punto de las áreas de interés. De esta manera se podía construir un mapa de la distribución de la captación y se dibujaban líneas de isocuentas. A Benedict Cassen se le ocurrió que podía mejorarse mecánicamente motorizando el detector con un movimiento sobre el área a contar. La salida del detector podía usarse para activar un lápiz móvil, que punteaba una imagen relativa al número de rayos gamma emanados de la zona barrida.

Pero surgieron inconvenientes, el principal fue el detector, ya que el Geiger tenía serias deficiencias. Por ejemplo era muy ineficiente para I-131, necesitándose grandes dosis. Fue necesario encontrar un detector más sensible a la radiación gamma.

La respuesta la dió la cristalografía. Ciertos cristales de alta densidad y transparencia tienen el poder de absor-

ber el fotón gamma y producir un flash de luz llamada centelleo.

En 1947, Kallmann desarrolló un detector de centelleo utilizando cristales orgánicos de naftaleno unidos a un fototubo multiplicador que tiene la capacidad de convertir los flashes de luz en fuentes ampliadas de electricidad. En 1951 Cassen armó el primer rastreador rectilíneo, con un cristal de tungstenato de calcio, mucho más eficiente que el de naftaleno.

La eficiencia del detector fue aumentada por Hofstadter activando un cristal de NaI con pequeñas cantidades de talio. Una ventaja especial de estos cristales es que pueden crecer hasta grandes tamaños necesarios corrientemente en Medicina Nuclear.

No sólo interactúan eficientemente con los rayos gamma dando grandes centelleos, sino que el tamaño de muchos de esos flashes son proporcionales a la energía del rayo gamma absorbido. Consecuentemente, los pulsos de voltaje captados por el tubo fotomultiplicador deben ser procesados electrónicamente para discriminar entre los rayos gamma de varias energías, para seleccionar sólo aquellos de interés primario. Esto facilita la localización de fuentes de emisión directa, porque uno puede discriminar fotones irrelevantes secundarios de baja energía, resultado de choques secundarios de algunos rayos primarios dentro del paciente. Se obtiene como resultado una buena imagen de la distribución espacial de la radiactividad.

La máquina de Cassen se completaba con un lápiz conectado al pulso amplificado y que se movía sobre un papel mediante un brazo solidario con el detector (Figura 1).

Hal Anger fue el inventor de la gamma cámara para la obtención de imágenes rápidas sin necesidad de "rastrear" el área de interés. Esta constaba de un cristal de NaI(Tl) de varias pulgadas de diámetro, acoplado ópticamente a una batería de siete tubos fotomultiplicadores; en el sistema la localización de cada centelleo se identificaba por una selección de la altura de pulsos correlacionados con la energía de los fotones incidentes y una rejilla de coordenadas que determinaba que los destellos que se producían en un tubo de rayos catódicos apareciera en la misma posición relativa del área de interés de la que emergen los rayos gamma; estos destellos se sumaban durante el tiempo de observación y podían ser fotografiados.

La primera gamma cámara no tuvo buena aceptación cuando fue presentada por Anger en 1956, recién se comercializó en 1964 y propició un avance considerable en la práctica en la medicina nuclear clínica.

En este avance ha tenido un papel relevante el uso del Tc-99m introducido por Harper y sus colaboradores, casi 30 años después de haber sido descubierto por Segré y Seaborg, como agente marcador de múltiples moléculas desarrolladas

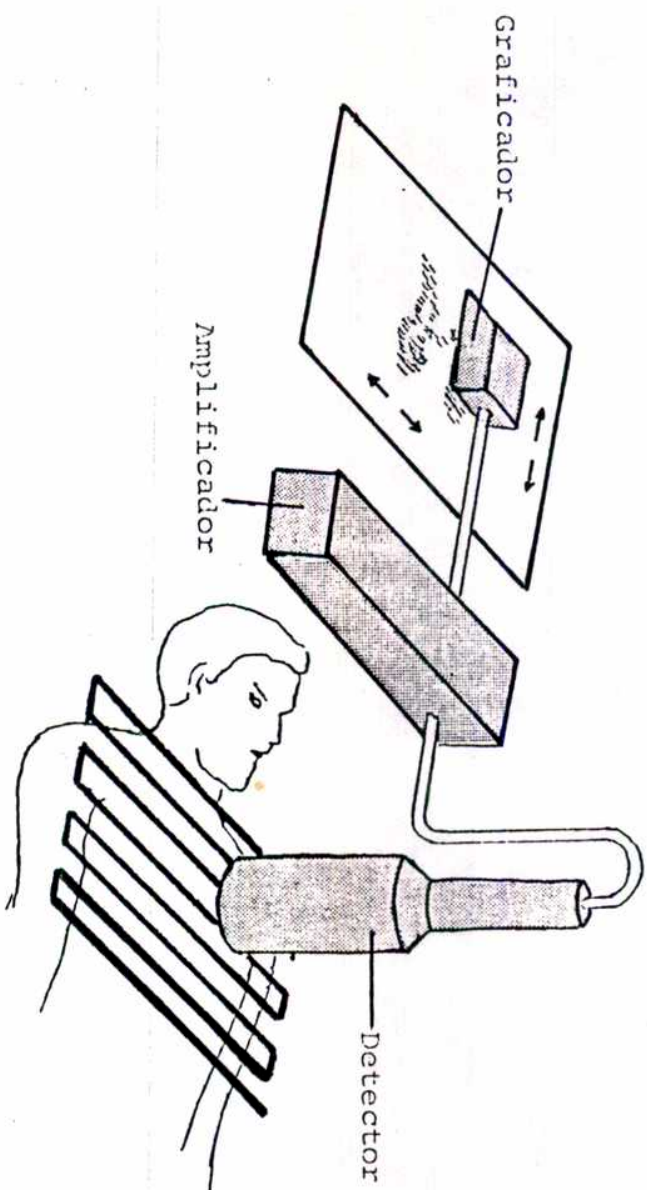


Figura 1. Esquema de un centellógrafo lineal.

por la radiofarmacia para cubrir diferentes aplicaciones.

En la década del cincuenta y principios de los sesenta se produjeron acontecimientos importantes dentro de la radiofarmacia: en 1954 Vetter introdujo el uso del oro coloidal (Au-198) para medir la limpieza sanguínea y estimar el flujo sanguíneo hepático; luego se usó para gammagrafía hepática. En el mismo año, Taplin inició la aplicación del colorante Rosa de Bengala marcado con I-131 para estudios funcionales de hígado, y con el mismo material Stirret obtuvo las primeras gammagrafías demostrativas de metástasis y abscesos.

En 1958 se comenzó a usar la albúmina humana marcada con I-131 para estudios de pool sanguíneo.

MacAfee y Wagner en 1960, comenzaron a usar Neohidrina marcada con Hg-203 para centellografía renal. En el mismo año Tubis realizó estudios de exploración renal con Hipurán marcado con I-131.

En 1961, Fleming utilizó radioestroncio (Sr-85) para obtener gammagrafías óseas. Los estudios de páncreas los iniciaron, en 1962, Blau y Bender, utilizando un precursor metabólico, la seleniomietionina (Se-75).

Taplin, en 1964, introdujo la gammagrafía pulmonar perfusoria con macroagregados de albúmina marcados con I-131.

El estudio del sistema reticuloendotelial, principalmente hígado y bazo, se inició en 1965, cuando Harper introdujo la aplicación del sulfuro coloidal marcado con Tc-99m.

Finalmente, en los últimos años la Medicina Nuclear cuenta con una nueva generación de cámaras gamma que incluyen detectores de gran campo de visión acoplados a 37 o más tubos fotomultiplicadores de elevada eficiencia, colimadores multiperforados, apropiados para cada necesidad de energía, sensibilidad y resolución y la incorporación de avanzados sistemas de computación, todo lo cual representa una innovación que inauguró una nueva era de grandes posibilidades (Figura 2).

Actualmente, esta nueva era está representada por la Tomografía de Emisión de Fotón Único (SPECT) y la Tomografía de Emisión de Positrones (PET). La tomografía tanto sea radiográfica o radioisotópica es la representación en dos dimensiones de una situación anatómica en tres dimensiones. Actualmente el término "tomografía computada" se refiere a un método de diagnóstico radiológico que provee imágenes de secciones transversales del cuerpo. El principio de la reconstrucción de la imagen usado en la tomografía computada puede ser utilizado para la visualización de estructuras anatómicas, no sólo por rayos X, sino también en el campo de la Medicina Nuclear para la visualización utilizando emisores gamma o de positrones. En este caso se habla de tomografía de emisión computada. En la tomografía computada la imagen se reconstruye a partir de una serie de proyecciones radiográficas obtenidas a diferentes ángulos con respecto al objeto a visualizar. La computadora, mediante un algorit-

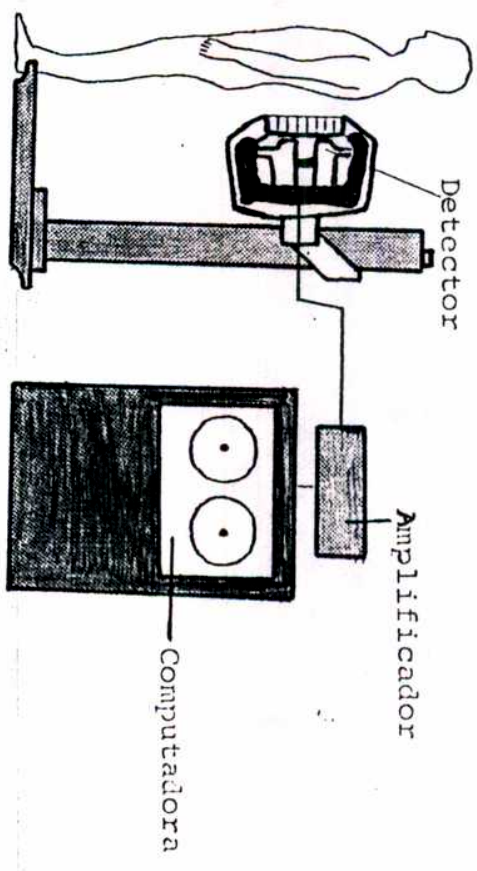
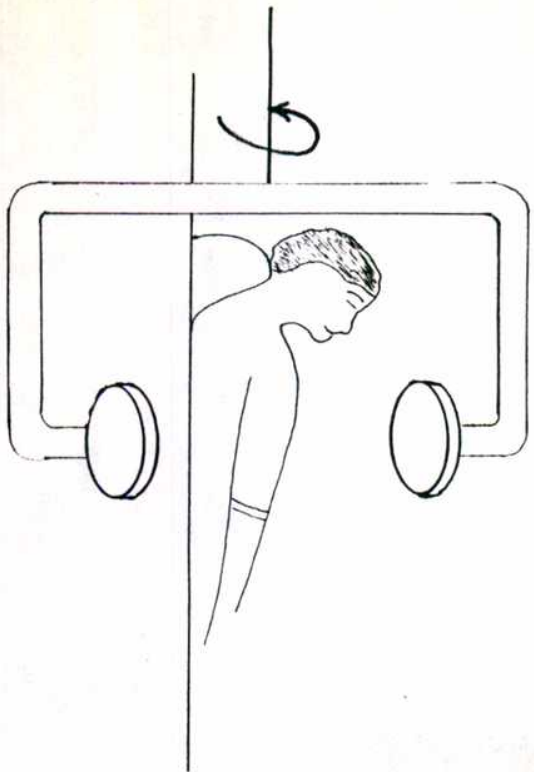
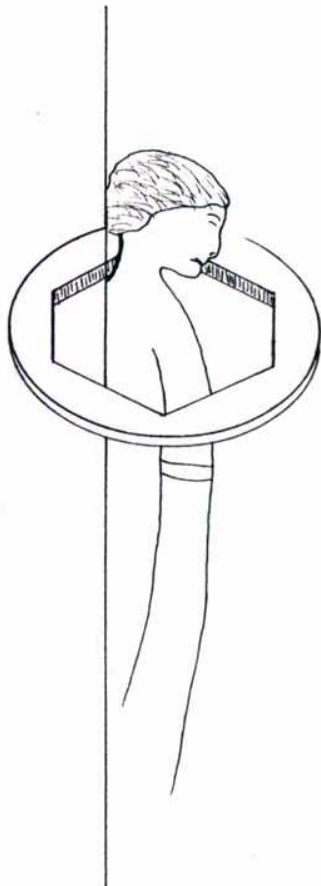


Figura 2. Esquema de una cámara gamma

mo conveniente, genera la imagen recibida en forma digital desde el detector, la cual es visualizada en un monitor. Conceptualmente es fácil extrapolar los principios básicos de la tomografía computada a la Medicina Nuclear, donde la imagen refleja la distribución de un radionucleído. En el caso de tomografía por emisión la radiactividad es colectada por medio de un detector de actividad convenientemente colimado y que barre el objeto con una geometría conveniente, circular, rotatoria, etc. y es registrada como cuentas por unidad de tiempo en función de la posición del detector con respecto al objeto. Estos datos pueden registrarse como un perfil en el cual la ordenada representa el conteo y la abscisa la posición del rastreador. Esta operación se repite para un cierto número de ángulos alrededor del objeto, y la imagen puede reconstruirse por aplicación de un algoritmo conveniente. La emisión puede tratarse de rayos gamma, y en ese caso se trata de SPECT, o de positrones, con lo cual se trata de PET. Ambas técnicas han penetrado con éxito en los campos tradicionalmente ocupados por la neurología y la cardiología; ya que mediante éstas y contando con los radiofármacos adecuados es posible el estudio de la fisiología y los procesos bioquímicos in vivo (Figura 3 ).

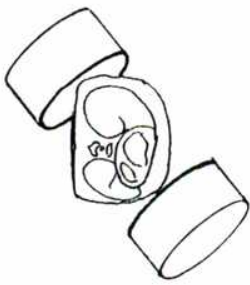


Cámara de Anger SPECT

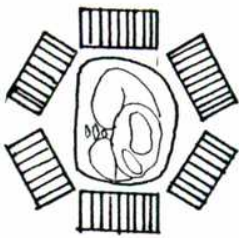


Cristal en anillo

SPECT



Cámara de positrones



Configuración PET

PET



Anillo de positrones

NOCIONES DE FISICA NUCLEAR



## 1. DESINTEGRACION RADIATIVA

El fenómeno mediante el cual el núcleo de un átomo se transforma espontáneamente en otro recibe el nombre de desintegración radiactiva. En cada desintegración radiactiva el núcleo pierde aproximadamente una milésima parte de su masa en forma de radiación. Algunos núcleos mediante una sola desintegración alcanzan la estabilidad, se transforman en núcleos estables, otros necesitan sufrir sucesivas desintegraciones. Al nucleído que sufre la desintegración se le suele llamar nucleído madre, y al producto de la misma nucleído hija.

Puesto que la transformación de los núcleos va acompañada de emisión de radiaciones, a los núcleos inestables se los llama también núcleos radiactivos o activos.

Los núcleos pueden desintegrar por distintos mecanismos, emitiendo en cada caso distintos tipos de radiaciones o partículas (partículas alfa, partículas beta, neutrinos, radiaciones electromagnéticas, neutrones).

La velocidad con que el material radiactivo se desintegra es una constante independiente de todas las condiciones físicas y químicas. Dado un gran número de átomos de un elemento radiactivo el número medio de átomos  $dN$ , que se desintegrará en un intervalo elemental de tiempo,  $dt$ , se admite que es proporcional al número de átomos,  $N$ , presentes en el instante  $t$ ; esto es:

$$-dN = \lambda N dt$$

donde  $\lambda$  es la llamada constante de desintegración radiactiva.

Integrando esta ecuación resulta:

$$N = N_0 e^{-\lambda t}$$

donde  $N_0$  representa el número de átomos presentes en el instante  $t=0$ .

Esta ecuación nos dice que el número de átomos de una sustancia radiactiva dada decrece exponencialmente con el tiempo.

Definimos el período de semidesintegración ( $T$ ) como el tiempo que debe transcurrir para que un número estadísticamente significativo de átomos de un nucleído se reduzca a la mitad, mediante desintegraciones radiactivas.

Haciendo  $N=N_0/2$  y  $t=T$  obtenemos:

$$\lambda T = \ln 2$$

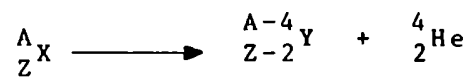
$$T = \frac{0,693}{\lambda}$$

## 1.1. Tipos de desintegración radiactiva

### 1.1.1. Desintegración alfa

Este tipo de desintegración es característica de los núcleos pesados con número atómico mayor que 82. En este tipo de desintegración el núcleo madre emite una partícula alfa, dando lugar a la formación del núcleo hija.

Este modo de desintegración puede representarse así:



siendo:

${}^A_Z X$  símbolo del nucleído madre

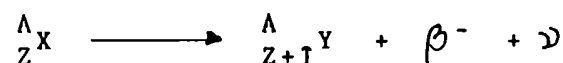
${}^{A-4}_{Z-2} Y$  símbolo del nucleído hija

### 1.1.2. Desintegración beta

La desintegración beta puede ser negativa o positiva. En el primer caso se emite una partícula beta negativa que es un electrón similar a los orbitales, pero dotado de mayor velocidad. En el segundo caso se emite un positrón, una partícula que tiene una masa y carga en valor absoluto igual a la del electrón pero de signo positivo.

El nucleído formado en la desintegración beta negativa (hija) tiene un número atómico una unidad mayor que el núcleo que le dió origen (madre), en cambio se conserva el número de masa.

Puede representarse así:



siendo:

${}^A_Z X$  símbolo del nucleído madre

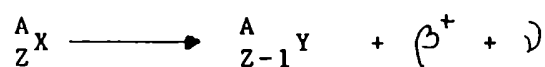
${}^A_{Z+1} Y$  símbolo del nucleído hija

$\beta^-$  símbolo del rayo beta negativo

$\nu$  símbolo del neutrino (partícula sin carga de masa despreciable)

La desintegración beta positiva se produce por acción de deuterones, partículas alfa, o neutrones rápidos sobre distintos elementos.

En la desintegración beta positiva un protón se transforma en un neutrón y se emite un positrón y un neutrino. Puede representarse así:



siendo:

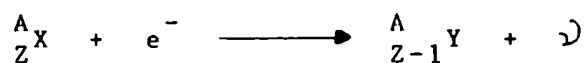
${}^A_Z X$	símbolo del nucleído madre
${}^A_{Z-1} Y$	símbolo del nucleído hija
$\beta^+$	símbolo del positrón
$\nu$	símbolo del antineutrino

### 1.1.3. Desintegración por captura electrónica

Los núcleos pueden bajar la relación protón:neutrón no sólo por desintegración beta positiva, sino capturando un electrón orbital. En esta transformación nuclear, que recibe el nombre de captura electrónica, un positrón se transforma en un neutrón. También se emite un neutrino. La captura electrónica va siempre acompañada de la emisión de rayos X característicos del átomo producido por la transformación nuclear.

El nucleído hija tiene un número atómico una unidad menor que el nucleído madre, conservándose el número de masa, no así la masa atómica precisa.

Se puede esquematizar así:



siendo:

${}^A_Z X$	símbolo del nucleído madre
${}^A_{Z-1} Y$	símbolo del nucleído hija
$e^-$	símbolo del electrón
$\nu$	símbolo del neutrino

### 1.1.4. Desintegración por neutrones

En la fisión nuclear, que tiene lugar espontáneamente en los núcleos pesados con una relación de neutrones a protones muy grande, un núcleo se fisiona en general en dos fragmentos asimétricos, emitiéndose en promedio dos neutro

nes por fisión.

Estos fragmentos que tienen exceso de neutrones respecto al valor exigido por la estabilidad, se libran de ellos por emisión directa de los mismos, transformándose en otros nucleídos, los que a su vez se acercan a la estabilidad eliminando los neutrones en exceso a través de desintegraciones beta negativas.

#### 1.1.5. Desintegración gamma e isomería

Un nucleído al desintegrar por alguno de los medios ya indicados puede dejar el núcleo hija en su estado fundamental (estado mínimo de energía) o en diferentes estados o niveles excitados. En estos niveles, el núcleo posee valores discretos de energía en exceso sobre el que tiene en el estado fundamental. Todo nucleído puede pasar de un nivel a otro, o a su estado fundamental emitiendo uno o más rayos gamma. Es decir, los rayos gamma emitidos por los nucleos radiactivos tienen energías bien definidas correspondientes a transiciones entre niveles de los mismos.

Los rayos gamma son ondas electromagnéticas que no son desviadas por campos magnéticos ni eléctricos. Son similares en todas sus propiedades físicas a los rayos X. La diferencia fundamental radica en que mientras los rayos X tienen su origen en las órbitas electrónicas, los rayos gamma se emiten como resultado de una reordenación espontánea de los nucleones en el núcleo.

Los rayos gamma y los rayos X son de la misma naturaleza que la luz, pero poseen una longitud de onda mucho menor. Se emiten en forma de fotones o cuantos de energía que se propagan con la velocidad de la luz.

#### 1.2. Leyes de desintegración radiactiva

El número de átomos de una sustancia radiactiva que desintegra durante un pequeño intervalo de tiempo, es proporcional al número de átomos presentes en la sustancia y al intervalo de tiempo considerado.

$$-\Delta N = \lambda N \Delta t$$

siendo:

$\Delta N$  número de átomos que desintegran  
 $N$  número de átomos activos presentes en la sustancia  
 $\Delta t$  intervalo de tiempo, muy pequeño  
 $\lambda$  constante de proporcionalidad, llamada constante de desintegración radiactiva, mide la probabilidad de que un átomo particular desintegre en la unidad de tiempo.

Si se hace  $\Delta t$  lo suficientemente pequeño, se tiene:

$$-\frac{dN}{dt} = \lambda N = A$$

A este valor, que es la velocidad de desintegración de una fuente activa al tiempo t (el signo negativo indica que son átomos que desaparecen), generalmente se lo conoce con el nombre de actividad y se lo designa con la letra A.

Por lo tanto actividad es el número de átomos que desintegran por unidad de tiempo.

Integrando la última expresión, se obtiene:

$$\frac{N}{N_0} = e^{-\lambda t}$$
$$N = N_0 e^{-\lambda t}$$

siendo:

N número de átomos activos presentes al tiempo t, o sea átomos que no han desintegrado al cabo de un tiempo t.

N<sub>0</sub> número de átomos activos presentes al tiempo t=0

Si se multiplican ambos miembros por  $\lambda$  se tiene:

$$\lambda N = \lambda N_0 e^{-\lambda t}$$
$$A = A_0 e^{-\lambda t}$$

siendo:

A<sub>0</sub> velocidad de desintegración o actividad de la fuente al tiempo inicial

A velocidad de desintegración o actividad al tiempo t.

#### 1.2.1. Mezcla de nucleídos activos sin relación genética entre sí

Cuando se tiene una fuente constituida por dos o más nucleídos independientes entre sí, la actividad absoluta total de la fuente está dada por:

$$\Lambda_t = \Lambda_1 + \Lambda_2 + \Lambda_3 + \dots + \Lambda_n$$

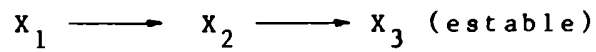
siendo:

$\Lambda_t$  actividad absoluta total de la fuente al tiempo t.

$\Lambda_1, \Lambda_2, \Lambda_3, \dots, \Lambda_n$  actividades absolutas de los nucleídos 1, 2, 3, ..., n, respectivamente.

1.2.2. Mezcla de nucleídos activos con relación genética en  
tre sí

Existen muchos casos, en los cuales una sustancia radiacti  
va da origen a otra que puede ser también activa. En es-  
tos casos se dice que la primera es madre de la segunda, a  
la que se denomina hija.



siendo:

- $X_1$  sustancia madre que desintegra con un período  $T_1$
- $X_2$  sustancia hija que desintegra con un período  $T_2$
- $X_3$  sustancia nieta, estable

La velocidad de formación de átomos hija estará dada por  
la diferencia entre la velocidad de desintegración de la  
madre y la velocidad de desintegración de la hija.

$$\frac{dN_2}{dt} = \lambda_1 N_1 - \lambda_2 N_2$$

$$\frac{dN_2}{dt} = \lambda_2 N_2 - \lambda_1 N_1 = 0$$

$$\frac{dN_2}{dt} + \lambda_2 N_2 - \lambda_1 N_{1,0} \cdot e^{-\lambda_1 t} = 0$$

donde:

- $N_2$  número de átomos hija al tiempo  $t$ .
- $\lambda_1$  constante de desintegración del nucleído madre
- $\lambda_2$  constante de desintegración del nucleído hija
- $N_{1,0}$  número de átomos madre al tiempo  $t = 0$

Resolviendo la última ecuación, obtenemos el número de  
átomos hija en presencia de su madre a cualquier tiempo  $t$ .

$$N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_{1,0} (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}) + N_{2,0} e^{-\lambda_2 t}$$

siendo:

- $N_{2,0}$  número de átomos hija al tiempo  $t = 0$

Si al tiempo  $t = 0$  no hubiera átomos hija, por haber si-  
do eliminados por algún procedimiento químico por ejemplo,

se elimina el último término de la ecuación, y queda:

$$(1) \quad N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_{1,0} (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t})$$

o su equivalente:

$$N_2 = \frac{T_2}{T_1 - T_2} N_{1,0} (e^{-0,693t/T_1} - e^{-0,693t/T_2})$$

siendo:

$T_1, T_2$  los períodos de desintegración de la madre e hija respectivamente.

Por otro lado, el número de átomos de madre presentes en función del tiempo:

$$N_1 = N_{1,0} e^{-\lambda_1 t}$$

Si multiplicamos ambos miembros de la ecuación (1) por  $\lambda_2$ :

$$A_2 = N_2 \lambda_2 = \frac{\lambda_2 \lambda_1 N_{1,0}}{\lambda_2 - \lambda_1} (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t})$$

$$A_2 = \frac{\lambda_2}{\lambda_2 - \lambda_1} A_{1,0} (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t})$$

donde:

$A_2$  actividad de la sustancia hija, a un tiempo  $t$ , formada a partir de la madre.

$A_{1,0}$  actividad inicial de la madre, actividad a tiempo  $t = 0$

Expresando la última ecuación en términos de los períodos de desintegración se tiene:

$$(2) \quad A_2 = \frac{T_1}{T_1 - T_2} A_{1,0} (e^{-0,693t/T_1} - e^{-0,693t/T_2})$$

Esta expresión nos da la actividad de la hija creciendo en la madre en función del tiempo, es decir la actividad de la hija formada a partir de la madre.

En el instante en que la hija se separa de su madre, comenzará a caer con su propio período de acuerdo a:

$$A_2 = A_{2,0} e^{-0,693t/T_2}$$

donde  $A_{2,0}$  es la actividad de la hija en el instante de separarla de su madre.

A su vez la actividad de la madre a cualquier tiempo será:

$$A_1 = A_{1,0} e^{-\lambda_1 t} = A_{1,0} e^{-0,693t/T_1}$$

La actividad total de una fuente constituida por tres nucleidos con relación genética entre sí, de los cuales el tercer miembro es estable, estaría dada por:

$$A_t = A_1 + A_2$$

Reemplazando por sus valores:

$$A_t = A_{1,0} e^{-0,693t/T_1} + \frac{T_1}{T_1 + T_2} A_{1,0} (e^{-0,693t/T_1} - e^{-0,693t/T_2})$$

En el caso de que la hija sea estable el número de átomos de hija acumulados a cualquier tiempo  $t$  estará dado por (1), recordando que en este caso  $\lambda_2 = 0$  y  $T_2 = \infty$ .

Por lo tanto:

$$\begin{aligned} N_2 &= -N_{1,0} (e^{-0,693t/T_1} - 1) = N_{1,0} (1 - e^{-0,693t/T_1}) = \\ &= N_{1,0} - N_{1,0} e^{-0,693t/T_1} = N_{1,0} - N_1 \end{aligned}$$

Siendo  $N_1$  el número de átomos del nucleido madre al tiempo  $t$ .

En este caso, como es obvio, a la actividad total de la fuente sólo contribuirá la madre:

$$A_t = A_{1,0} e^{-0,693t/T_1}$$

### 1.2.3. Equilibrio transitorio, relación de actividades madre-hija

Si se tiene un par madre-hija en el cual el período de la madre es mayor que el de la hija, e inicialmente la madre está libre de hija, se observa que la actividad de la hija y la relación de actividades hija-madre crece con el tiempo, hasta que llega un momento (alrededor de siete a quince períodos de la hija) en que esta relación permanece constante. A partir de ese instante se dice que el par ha entrado en equilibrio.

Si en la ecuación (2) la relación  $T_1/T_1 - T_2$  es mayor que la unidad, se habla de equilibrio transitorio. Observando dicha ecuación se observa que después de cierto tiempo el término  $e[\exp(-0,693t/T_2)]$  se hace despreciable frente a  $e[\exp(-0,693t/T_1)]$ , momento a partir del cual la ecuación toma la forma :



$$A_2 = \frac{T_1}{T_1 - T_2} A_{1,0} e^{-0,693t/T_1}$$

Teniendo en cuenta que

$$A = A_0 e^{-0,693t/T}$$

se tiene:

$$A_2 = \frac{T_1}{T_1 - T_2} A_1$$

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{T_1 - T_2}{T_1}$$

Además, teniendo en cuenta que

$$A_t = A_1 + A_2$$

se tiene:

$$A_t = A_1 + \frac{T_1}{T_1 - T_2} A_1 = \left(1 + \frac{T_1}{T_1 - T_2}\right) A_1$$

A partir de lo cual se puede concluir:

.-a partir del momento en que el término  $e^{-0,693t/T_2}$  se hace despreciable frente a  $e^{\exp(-0,693t/T_1)}$  la hija cae con el período de la madre. A partir de ese instante se dice que el par ha entrado en equilibrio transitorio.

.-una vez alcanzado el equilibrio transitorio se establece una relación constante entre la actividad de la madre y de la hija, la actividad de la hija es siempre mayor que la actividad de la madre.

.- cuando la mezcla de madre e hija entra en equilibrio transitorio, la actividad total de la mezcla cae con el período de la madre.

#### 1.2.4. Equilibrio secular, relación de actividades madre-hija

Un caso límite de equilibrio se presenta cuando  $T_1$  es mucho mayor que  $T_2$ , en rigor cuando  $T_2$  se puede despreciar frente a  $T_1$ .

En este caso la ecuación (2) toma la forma:

$$A_2 = A_{1,0} (e^{-0,693t/T_1} - e^{-0,693t/T_2})$$

puesto que  $T_1/T_1 - T_2$  es prácticamente igual a uno.

Si sacamos el término  $e^{-0,693t/T_1}$  fuera del paréntesis se tiene:

$$A_2 = A_{1,0} e^{-0,693t/T_1} (1 - e^{-0,693t(1/T_2 - 1/T_1)})$$

Como  $T_1 \gg T_2$ ,  $1/T_1$  resulta insignificante frente a  $1/T_2$ , por lo tanto:

$$A_2 = A_{1,0} e^{-0,693t/T_1} (1 - e^{-0,693t/T_2})$$

$$A_2 = A_1 (1 - e^{-0,693t/T_2})$$

Después de transcurridos no menos de cinco a siete períodos el término  $e[\exp(-0,693t/T_2)]$  se hace despreciable frente a 1, de ahí que :

$$A_2 = A_{1,0} e^{-0,693t/T_1}$$

$$(3) \quad A_2 = A_1$$

Además:

$$A_t = A_1 + A_2 = 2 A_1$$

Al tiempo que se cumple (3) se dice que entre madre e hija se ha establecido equilibrio secular.

Teniendo en cuenta (3) y como  $A = N 0,693/T$ , se deduce:

$$N_2 0,693/T_2 = N_1 0,693/T_1$$

$$N_1/N_2 = T_1/T_2$$

Al llegar un par madre-hija al equilibrio secular se tiene:

- .-la actividad de la hija cae con el período de la madre.
- .-la actividad de la hija es igual a la de la madre.
- .-la relación entre el número de átomos de madre e hija es directamente proporcional a los períodos respectivos.
- .- la actividad total de una fuente constituida por dos nucleídos en equilibrio secular decae con el período de la madre y es igual al doble de la actividad de la madre.

Hija de período mayor que el de la madre

Si el período de la madre es menor que el de la hija, la relación de actividades  $A_2/A_1$  crece continuamente con el tiempo.

Si la madre inicialmente está libre de hija, la actividad de ésta comienza a crecer pasando por un máximo y luego

decae, en el caso extremo de  $T_1 \ll T_2$ , con su propio período.

## 2. INTERACCION DE LA RADIACION ELECTROMAGNETICA CON LA MATERIA

La interacción de la radiación gamma con la materia ocurre en tres efectos principales:

### 2.1. Efecto fotoeléctrico

Fotones con energías menores que 0,1 MeV interactúan en todos los medios y con absorbedores de alto número atómico a través del proceso fotoeléctrico. En este proceso se considera que el fotón interactúa con los electrones de un átomo transfiriendo prácticamente toda su energía a uno de ellos. De esta manera el electrón es arrancado de su órbita con una energía cinética  $E_e$  tal que:

$$E_e = E - W = h\nu - W$$

Siendo:

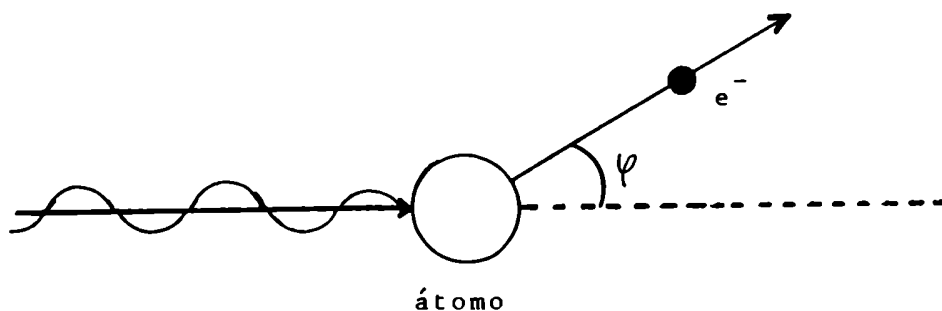
$E$  energía del fotón

$h$  constante de Planck  
frecuencia del fotón

$W$  energía de unión del electrón arrancado.

En el 80% de los casos en el proceso fotoeléctrico, los electrones que se emiten pertenecen a la capa K, siempre que la energía del rayo gamma supere la energía de unión de los electrones de esa capa. Se produce emisión de rayos X característicos debido a la recomodación de electrones que sufre el átomo.

En la figura se ha esquematizado el fenómeno fotoeléctrico, siendo  $\varphi$  el ángulo que forman las direcciones del rayo gamma y del electrón emitido.



## 2.2. Efecto Compton

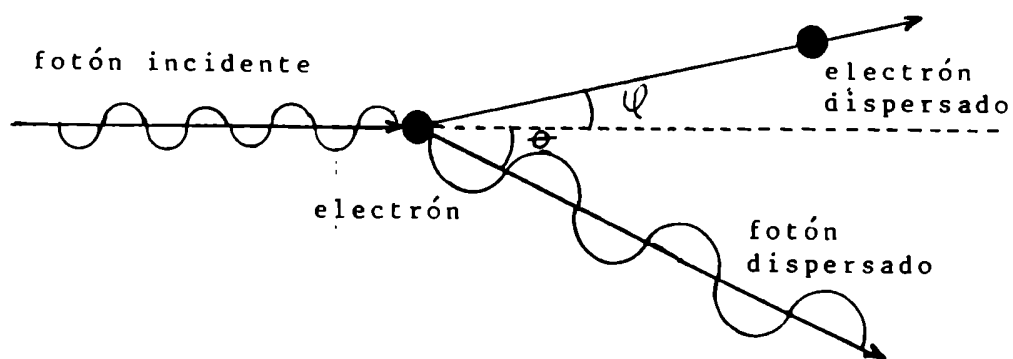
En el efecto Compton el fotón transfiere sólo una parte de su energía a un electrón libre o ligado, desviándolo de su dirección original. El electrón dispersado pierde luego su energía a partir de procesos del medio, o interactúa nuevamente; cumpliéndose:

$$E_{\gamma} = E_{\gamma}' + E_e$$

$$h\nu = h\nu' + E_e$$

siendo:

$E_{\gamma}$  energía del rayo gamma incidente  
 $E_{\gamma}'$  energía del rayo gamma dispersado  
 $\nu$  frecuencia original del fotón incidente  
 $\nu'$  frecuencia del fotón después del proceso Compton



La energía del electrón dispersado puede derivarse a partir de las condiciones de conservación del momento, y es:

$$E_c = \frac{E_{\gamma}^2 (1 - \cos\theta)}{E_{\gamma} (1 - \cos\theta) + mc^2}$$

siendo:

$m$  masa en reposo del electrón  
 $c$  velocidad de la luz  
 $\theta$  ángulo que forman las direcciones del rayo gamma incidente y el dispersado.

De esta expresión surge que la distribución en energía de los electrones que sufren dispersión Compton va desde un valor  $E=0$ , para  $\theta=0^\circ$ , hasta un valor máximo,  $E_{\max}$ , cuando

$\theta = 180^\circ$ . Este máximo es:

$$E_{\max} = \frac{E_\gamma}{1 + \frac{mc^2}{2E_\gamma}}$$

El electrón dispersado se emite en un ángulo  $\varphi$  que varía entre  $90^\circ$  (cuando el fotón es dispersado en un ángulo  $\theta = 0^\circ$ ) y cero (cuando el fotón se emite en un ángulo  $\theta = 180^\circ$ ).

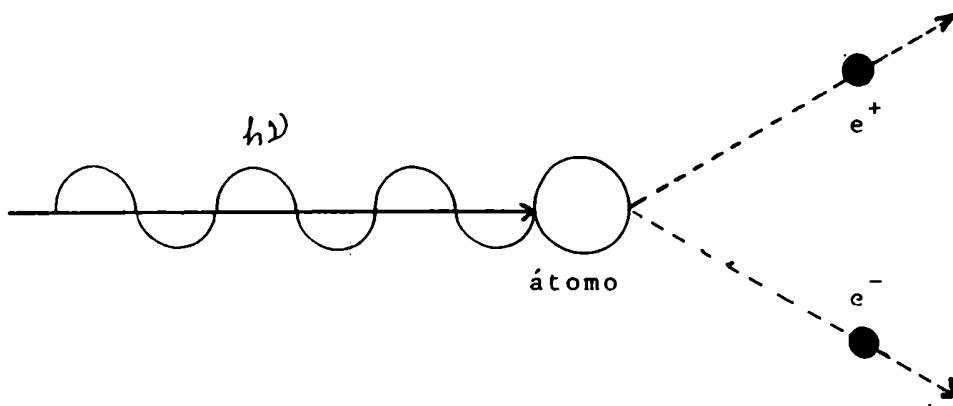
### 2.3. Formación de pares

Cuando la energía del fotón que incide sobre la materia, es superior a dos veces la masa de reposo del electrón (1,02 MeV), comienza a ponerse en evidencia un tercer tipo de interacción: formación de pares. En este proceso el fotón en un campo de partículas cargadas, fundamentalmente en el campo nuclear, desaparece creándose un par: positrón y electrón, con energías cinéticas tales que se cumple:

$$E_\gamma = 2mc^2 + E_{e^-} + E_{e^+}$$

siendo:

$E_{e^-}$  - energía del electrón  
 $E_{e^+}$  - energía del positrón



### 3. MEDICION DE LA RADIACION GAMMA

Los detectores Geiger Müller miden con alta eficiencia intrínseca la radiación beta, entendiéndose por eficiencia intrínseca la relación entre el número de partículas o rayos detectados y el número que entra al detector. Esta eficiencia intrínseca alcanza el 100% para beta en el caso de con-

tadores Geiger Müller de ventana. La eficiencia intrínseca de estos mismos detectores para radiación gamma es muy baja (1 al 3%).

Existen otros tipos de detectores, entre los cuales se pueden seleccionar algunos que presentan alta eficiencia y otras características que los hacen especialmente aptos para la detección y medición de la radiación gamma, son los llamados detectores de centelleo.

Existen ciertos materiales que presentan la característica de que al ser chocados por la radiación emiten un pequeño destello de luz visible o ultravioleta, de ahí que reciben el nombre de centelleadores.

Estas sustancias pueden ser sólidas o líquidas, naturales o artificiales. Los sólidos son en general cristales de sustancias puras, se los llama cristales de centelleo. Para medir radiación gamma se utilizan universalmente cristales de yoduro de sodio activados con talio,  $\text{INa(Tl)}$ . Se trata de cristales de yoduro de sodio, a los que durante su crecimiento se les incorpora una pequeñísima cantidad de talio que distorsiona la red del cristal, dándole la característica de centellear a la temperatura ambiente cada vez que interacciona con él la radiación, ya que los cristales puros de  $\text{INa}$  sólo emiten luz a muy bajas temperaturas.

Originariamente los centelleos se detectaban en forma visual, pero en la actualidad lo que se hace es transformar los centelleos en pulsos de tensión o de corriente que son registrados.

No sólo se logra el registro de los centelleos, sino la medición de su intensidad. La observación y medida de los centelleos producidos en centelleadores por partículas ionizantes individuales, constituye la base del instrumento llamado contador de centelleo.

En la figura 4 se presenta un esquema de un contador de centelleo. El fotomultiplicador fundamentalmente es una célula fotoeléctrica seguida en la misma unidad por un amplificador de corriente de alta ganancia. Está constituido por un fotocátodo, una serie de blancos para emisión secundaria, llamados dínodos, un sistema óptico-electrónico, que permite guiar los electrones de un dínodo al vecino que se encuentra a más alto potencial; un ánodo donde es liberada la corriente de electrones que dará origen al pulso de tensión o señal, que después de ser amplificado y clasificado será registrado.

Entre ánodo y fotocátodo se aplican tensiones dependientes de las características del fotomultiplicador, la que se reparte en partes iguales entre los dínodos. La tensión está aplicada de tal manera que el primer dínodo está a más alta tensión que el fotocátodo, el segundo dínodo a más alta tensión que el primero, el tercero a más alta tensión que el segundo y así sucesivamente.

La emisión fotoeléctrica, que es aprovechada por el foto

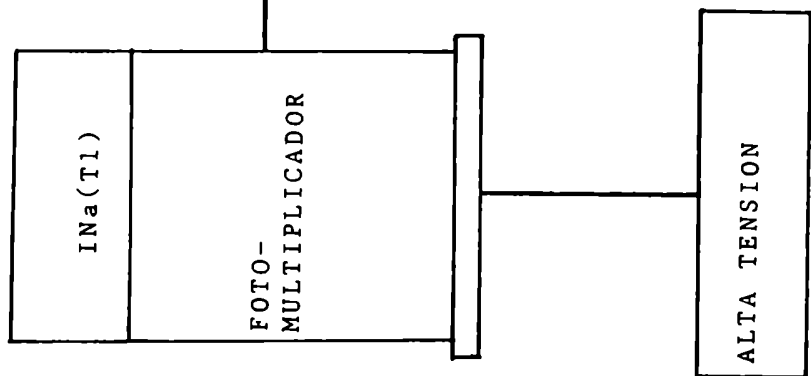


Figura 4. ESQUEMA DE UN CONTADOR DE CENTELLEO

multiplicador, no es más que el resultado de la interacción de la radiación electromagnética con la superficie del fotocátodo. Efectivamente, al actuar los fotones sobre el fotocátodo pueden producir la salida de electrones. Un electrón arrancado del fotocátodo es atraído por el primer dínodo debido a su mayor potencial, el campo eléctrico establecido entre el fotocátodo y el primer dínodo le imprime a ese electrón suficiente energía como para poder arrancar por lo menos dos electrones, los que a su vez son solicitados por el segundo dínodo. Cada uno de estos dos electrones, sometidos a un campo eléctrico similar, son capaces de arrancar dos electrones a su vez.

El número de electrones que se liberarán en el ánodo será proporcional a una potencia, en la cual la base será el número de electrones arrancados del primer dínodo y el exponente el número de dínodos. El número de electrones arrancados del primer dínodo depende de la tensión aplicada al fotomultiplicador. A mayor tensión aplicada al fotomultiplicador, se logrará mayor multiplicación de electrones, y más se liberarán en el ánodo, y mayor será la señal. En la figura 5 se presenta un esquema de lo expuesto.

Los mecanismos por los cuales un rayo gamma puede transferir toda su energía a electrones del cristal son: efecto fotoeléctrico, efecto Compton seguido de efecto fotoeléctrico, o diferentes interacciones que conduzcan a la absorción total del fotón Compton, y formación de pares. En condiciones óptimas, la energía del rayo gamma transferida a electrones del cristal queda retenida en el cristal. Esta energía, en parte, es devuelta en forma de luz, y como la longitud de onda de los fotones emitidos por el cristal es característica del mismo, el número de fotones emitidos será proporcional a la energía absorbida, siempre que la eficiencia de transformación de energía absorbida por el cristal a fotones sea independiente de la energía absorbida por el centelleador, hecho que tiene lugar cuando se trata de radiación gamma y cristales de  $\text{INa(Tl)}$ .

Los fotones producidos en el cristal, salen del mismo y chocan con el cátodo del fotomultiplicador. Los fotones al interaccionar con el fotocátodo producen emisión de electrones. Estos generan emisión de electrones secundarios en los dínodos del fotomultiplicador en forma multiplicada, de manera que al final se libera una corriente de electrones (se genera un pulso) que será proporcional al número de electrones producidos en el fotocátodo. Por lo tanto la altura del pulso a la salida del fotomultiplicador será proporcional a la energía absorbida.

Una vez que los pulsos salen del fotomultiplicador, pasan al preamplificador y de ahí al amplificador, donde son amplificados entre 100 y 1000 veces para alcanzar el tamaño necesario para ser registrados.



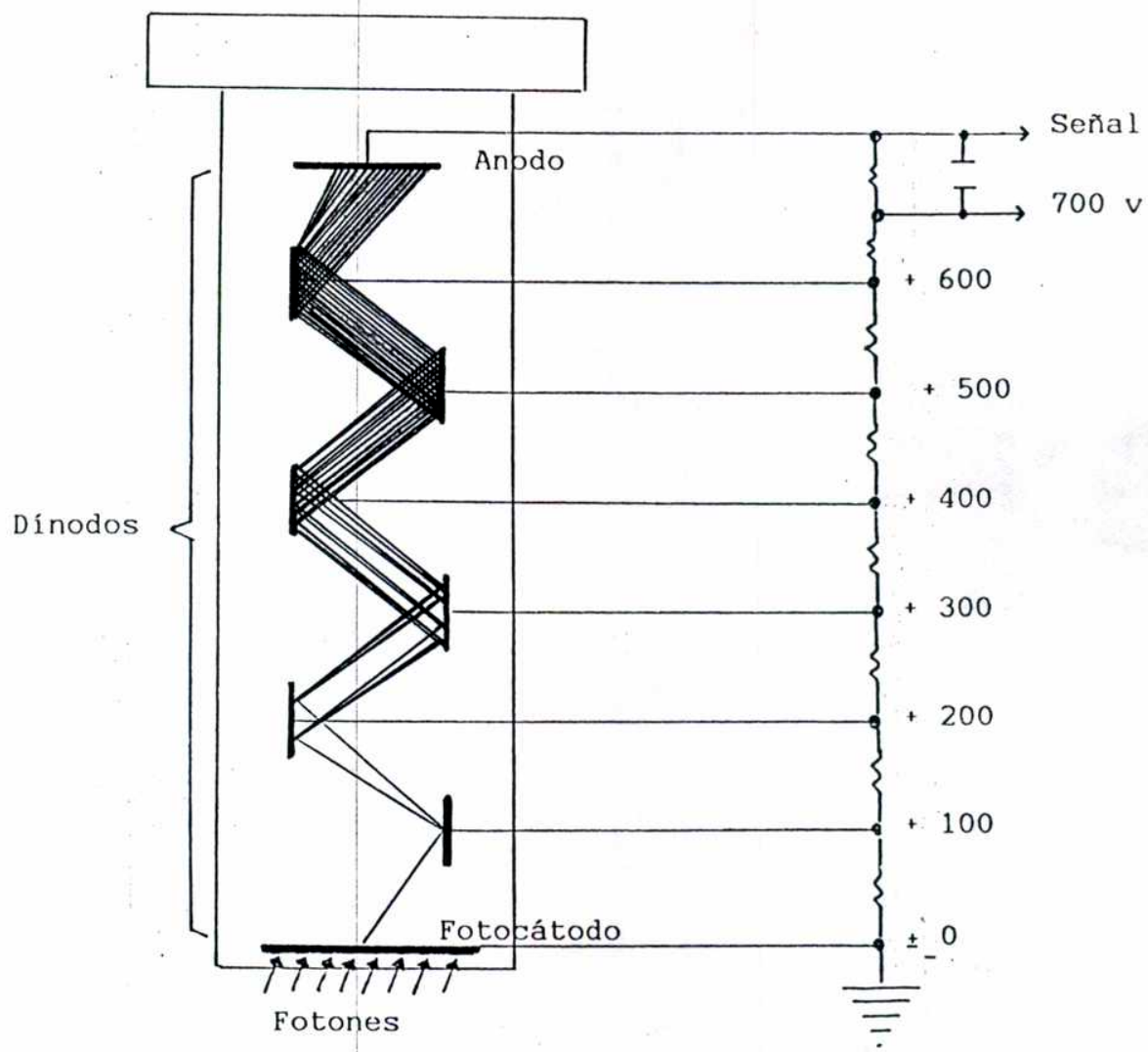


Figura 5. FOTOMULTIPLICADOR

TECNECIO

## 1. CARACTERISTICAS GENERALES

A partir de los años sesenta el uso de radioisótopos en medicina ha crecido en una forma extremadamente rápida y actualmente puede considerarse una de las aplicaciones del átomo más importante y útil.

En la mayoría de los procedimientos diagnósticos se desea un nucleído de corta vida, puesto que las observaciones se completan en un corto tiempo luego de la administración, y cualquier radiactividad "sobrante" sólo contribuye a la dosis de radiación recibida por el paciente sin proveer información adicional. Usando un radioisótopo de vida media corta se logra una gran reducción en la dosis de radiación y frecuentemente permite la administración de una mayor cantidad de radiactividad, lo que mejora el diagnóstico. El aumento de la eficiencia de los reactores y aceleradores ha hecho posible la producción de muchos radionucleídos de corto período de semidesintegración, mientras que el desarrollo de los generadores de radioisótopos de ciertos nucleídos de vida corta han resuelto su uso lejos de los centros de producción.

Otro factor a tener en consideración, que juega un papel muy importante en la Medicina Nuclear, es el desarrollo de técnicas de marcación de moléculas de interés biológico con radioisótopos. Este procedimiento permite el transporte de radioisótopos con excelentes propiedades físicas (vida media y energía) a regiones de interés biológico aún cuando el isótopo en formas químicas simples no se comportaría de esta manera.

Las potencialidades de un radiotrazador dependen de la química del elemento involucrado. Al respecto el tecnecio es un elemento fascinante por su "prolífica" química. Aunque la estructura exacta de la mayoría de los compuestos del tecnecio que constituyen los radiofármacos no está todavía esclarecida, se pueden sacar algunas conclusiones por su ubicación en la Tabla Periódica: se trata de un elemento de transición del grupo VII B y por lo tanto posee el nivel 4d incompleto. Por extrapolación de las características químicas de sus vecinos, principalmente el renio, podemos concluir que el tecnecio exhibe múltiples estados de oxidación y por lo tanto tiene la posibilidad de constituir innumerables complejos, siempre que se disponga de los ligandos apropiados.

La forma química más estable del tecnecio es el ión pertecneciato,  $TcO_4^-$ , que por su comportamiento fisiológico recuerda al yoduro, ya que tiene una distribución inicial en el cuerpo muy parecida a la de éste. Como el yoduro, se concentra selectivamente en la tiroides, glándulas salivares y estómago, y es excluído selectivamente del fluido cerebroespinal. El pertecneciato se une a las proteínas en circula

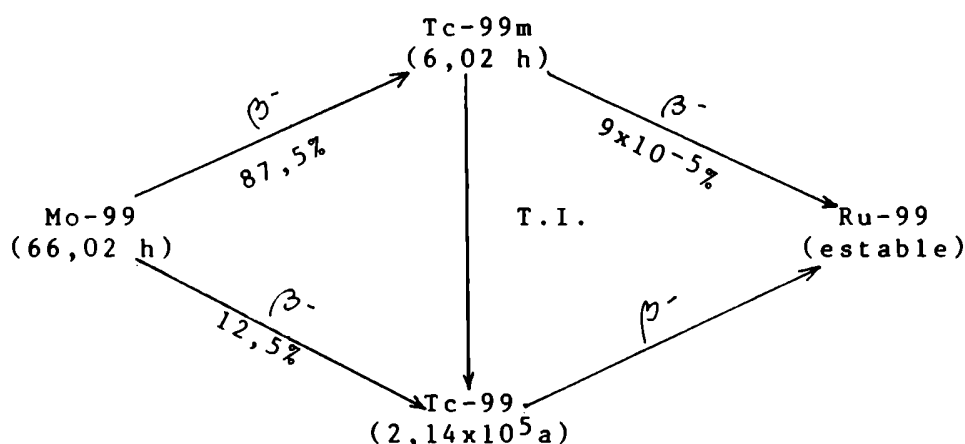
ción más firmemente que el yoduro y aparentemente cambia a otras formas químicas haciendo lenta su secreción. Cuando se lo reduce a una valencia más baja, el tecnecio se combina hábilmente con una gran variedad de moléculas para formar compuestos o complejos estables.

Las favorables características físicas del Tc-99m consisten en una corta, pero no tanto, vida media de seis horas, la emisión de una única radiación gamma de 140 keV, y la ausencia de radiación particulada. Así la energía recibida por los tejidos es mínima. La hija del Tc-99m, el Tc-99, contribuye en forma insignificante a la dosis de radiación porque la cantidad de radiactividad es muy pequeña debido a su largo período de semidesintegración ( $2 \times 10^5$  años).

El uso clínico del Tc-99m no sólo se debe a sus características físicas, sino también a la posibilidad de disponer del generador, en el que se encuentra en equilibrio con la madre, Mo-99, cuyo período es de 66 horas. El Mo-99 producido por fisión o activación neutrónica del Mo-98, se adsorbe como molibdato sobre una columna de alúmina, de la cual se eluye con solución fisiológica el Tc-99m.

## 2. CINETICA DEL SISTEMA Mo-99/Tc-99m

La formación de Tc-99m y Tc-99 del decaimiento del Mo-99 se representa a través del siguiente esquema:



Observando el esquema podemos establecer:

i) El número de átomos de Mo-99 al tiempo t

$$(1) \quad (N_1)_t = (N_1)_0 e^{-\lambda_1 t}$$

ii) La actividad del Mo-99 al tiempo t

$$(2) \quad (A_1)_t = (A_1)_o e^{-\lambda_1 t}$$

donde las  $\lambda_i$  son las constantes de decaimiento,  $N_i$  son los números de átomos y  $A_i$  son las actividades para los tres radionucleídos.

iii) El número de átomos de Tc-99m al tiempo t

$$(3) \quad (N_2)_t = \frac{0,875 \lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} (N_1)_o (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}) + (N_2)_o (e^{-\lambda_2 t})$$

iv) La actividad de Tc-99m al tiempo t

$$(4) \quad (A_2)_t = \frac{0,875 \lambda_2}{\lambda_2 - \lambda_1} (A_1)_o (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}) + (A_2)_o (e^{-\lambda_2 t})$$

v) El tiempo al cual ocurre el máximo de actividad de Tc-99m, obtenido diferenciando la ecuación (4) y colocando  $dA_2/dt = 0$ , es

$$(5) \quad t_{\max} = 22,89 \text{ h}$$

vi) Considerando que inicialmente sólo hay presente Mo-99; la relación que conecta el número de átomos de Mo-99 ( $N_1$ ), Tc-99m ( $N_2$ ) y Tc-99 ( $N_3$ ), es

$$(6) \quad (N_1)_t + (N_2)_t + (N_3)_t = (N_1)_o$$

donde  $(N_3)_t$ , es el número de átomos de Tc-99 al tiempo t, lo encontramos sustituyendo en las ecuaciones (1) y (3);

$$(7) \quad (N_3)_t = (N_1)_o \left[ 0,875 \left( 1 + \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} e^{-\lambda_2 t} - \frac{\lambda_2}{\lambda_2 - \lambda_1} e^{-\lambda_1 t} \right) + 0,125 (1 - e^{-\lambda_1 t}) \right]$$

En realidad el número de átomos de Tc-99m ( $N_2$ )<sub>t</sub> será ligeramente menor debido al decaimiento durante el tiempo t (figura 6).

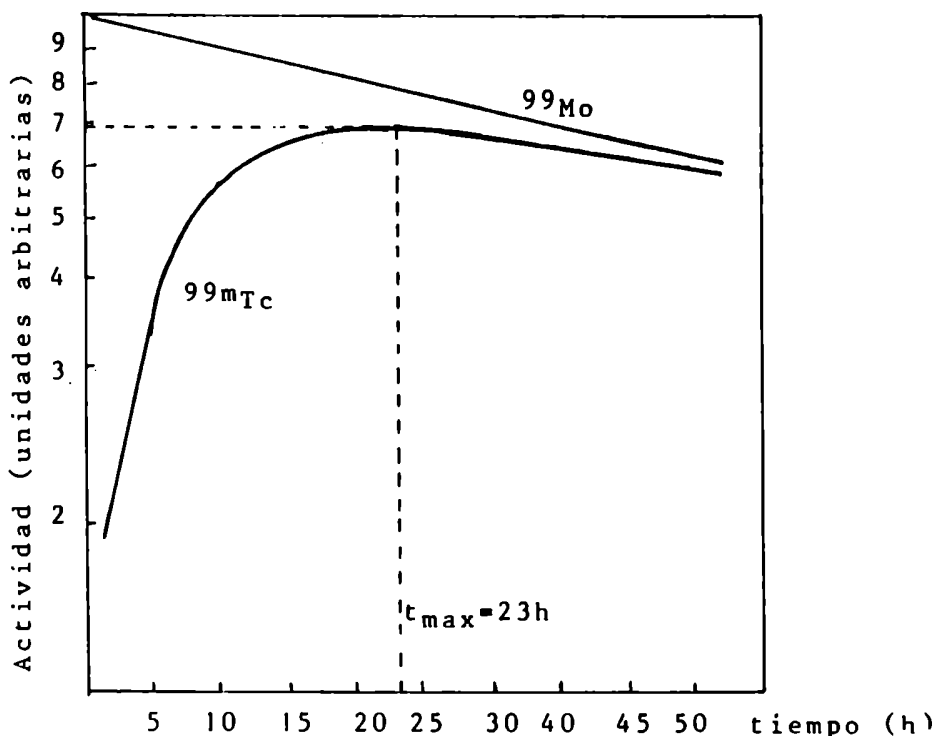


Figura 6 Decaimiento-crecimiento del sistema Mo-99/Tc-99m

### 3. PRODUCCION DE Mo-99

Hay varios métodos para la separación de Tc-99m del Mo-99 y en la mayoría de los casos la elección del método depende del modo de preparación y de la calidad del Mo-99.

El Mo-99 puede producirse por irradiación de Mo (natural o enriquecido en Mo-98) con neutrones; alternativamente puede obtenerse de la fisión del uranio.

En el caso de la activación por neutrones el proceso post irradiación es mínimo y el desperdicio de radiactividad es pequeño. Sin embargo, debido a la sección eficaz pequeña se deben irradiar grandes cantidades de Mo metálico o trióxido para obtener un buen rendimiento de Mo-99. Además se tiene la desventaja de la baja actividad específica obtenida (menor de 10 Ci/g de Mo).

El Mo-99 de fisión demanda procesos caros y elaborados y cuidado extremo para evitar la contaminación con otros productos de fisión altamente tóxicos y emisores alfa transuránicos. A pesar de la alta sección eficaz de fisión del U-235 y el alto rendimiento de fisión del Mo-99, el rendimiento general está restringido por consideraciones prácticas, tales como la disipación del calor nuclear o el gran desperdicio de radiactividad. La actividad específica obte-

nida es alta (mayor de  $10^4$  Ci/g de Mo).

El criterio de elección del método de producción de Mo-99 incluye economía y modo de utilización. Las dificultades prácticas asociadas con la producción de Mo-99 de fisión se reflejan en los costos; aún en manufacturas a gran escala el costo de producción de 1 Ci de Mo-99 de fisión supera en cuatro veces el de 1 Ci de Mo-99 (n,  $\beta$ ).

La justificación para la producción de Mo-99 de fisión se establece en la actividad específica y la ausencia de su eficiente progreso tecnológico que permita el uso de Mo-99 (n,  $\beta$ ) en generadores de Tc-99m más avanzados y transportables.

### 3.1. Métodos de separación de Tc-99m y Mo-99

Los métodos de separación del Tc-99m del Mo-99 más comunes son: trast cromatografía, sublimación y extracción por solventes.

#### 3.1.1. El generador cromatográfico

Este tipo de generador fue descrito originalmente por Tucker y consta de un lecho de alúmina de grado cromatográfico, al que está unido el Mo-99; el pasaje de solución fisiológica a través del lecho eluye el Tc-99m.

Los generadores cromatográficos se preparan con Mo(n,  $\beta$ ); sin embargo se necesita un gran lecho de alúmina, lo cual da perfiles de elución subóptimos. Esta eficiencia puede aumentarse utilizando un blanco enriquecido en Mo-98 que puede someterse a una intensa irradiación con neutrones.

Es corriente la práctica del uso de Mo-99 de fisión de alta actividad específica para proveer de grandes actividades de Tc-99m, que pueden separarse en pequeños volúmenes de eluido.

La eficiencia de un generador puede definirse como la proporción de Tc-99m en el sistema el cual es separado durante el proceso de elución; se expresa como porcentaje.

Hay evidencia circunstancial de que las especies radioquímicas presentes en el sistema están sujetas al ataque de radicales libres y que normalmente las especies eluibles se reducen por radiación ionizante y subsecuentemente quedan retenidas por la alúmina.

El Tc-99m fue seleccionado para su uso en Medicina Nuclear porque involucra un mínimo de exposición cuando se administran actividades relativamente altas. La presencia de trazas de otros radionucleidos puede aumentar la radiación a un nivel inaceptable; desafortunadamente, algunas de las impurezas menos deseables, por sus altas dosis de radiación, por ejemplo emisores alfa y emisores beta puros, son los más difíciles de detectar y cuantificar. Generalmente los usuarios no disponen de monitores para contaminación radionucleídica, por lo tanto es resorte de los productores mantener altos estándares de producción.

En general la naturaleza de las impurezas radionucleídicas son dictadas por la ruta de producción del Mo-99. La ma

por impureza del eluido de Tc-99m es el mismo Mo-99. Esto se reduce por pretatamiento de la alúmina por activación a alta temperatura (250°) o tratamiento con plata de las partículas de alúmina.

Los eluidos también pueden contener ciertas impurezas químicas, originadas u en el lecho del generador o el eluyente, lo cual va en detrimento de la aplicación clínica del radionucleido.

Probablemente la impureza química más común es la alúmina. Los iones  $Al^{3+}$  se forman durante la adsorción del Mo-99, cuando el lecho de alúmina está sujeto a un medio ácido; aunque estos iones son esencialmente removidos en el lavado, es posible detectar  $Al^{3+}$  en los eluidos.

Las impurezas químicas indeseables pueden ser agregadas a la solución de Tc-99m por el eluyente. Tal es el caso de oxidantes (por ejemplo ultratón) agregados al eluyente para soslayar los efectos de aparición inducida radiolíticamente de electrones solvatados.

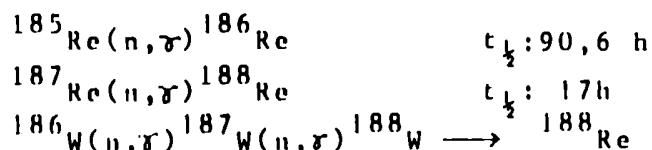
### 3.1.2. El generador de sublimación

La volatilidad del tecnecio fue señalada por Perrier y Segré en 1937, esta propiedad fue importante en el descubrimiento del elemento, siendo usada para separarlo del molibdeno. Robson y Boyd predijeron que las diferentes volatilidades del trióxido de molibdeno y el heptóxido de tecnecio podían aprovecharse satisfactoriamente para proveer una fuente de Tc-99m, médicamente aceptable.

El trióxido de molibdeno irradiado se calienta a 850°C en corriente de oxígeno. El Tc-99m, separado del  $MoO_3$  caliente se condensa en una zona fría en la salida del aparato; algo del  $MoO_3$  se volatiliza y debe removerse de la fase vapor por pasaje a través de tapón poroso que se mantiene a una temperatura intermedia entre la de sublimación y el punto de ebullición del  $Tc_2O_7$ . El aparato es capaz de manejar 200 g de  $MoO_3$  irradiado de baja actividad específica (1 Ci/g de Mo) dando un rendimiento de 75 Ci de Tc-99m en menos de 20 ml de solución fisiológica.

La pureza radionucleídica depende de muchos factores, pero generalmente refleja la presencia de sustancias en el material blanco. Por supuesto que el contaminante más común es el Mo-99. Esto se evita con una "barrera" mantenida a 600°C.

Otros radiocontaminantes encontrados en el Tc-99m sublimado se originan en trazas de Re, W y U en el material blanco ( $MoO_3$ ). Durante la activación ocurren las siguientes reacciones:





La similitud química del renio y el tecnecio hace que a parezca renio activo en el Tc-99m. La presencia de uranio en el  $\text{MoO}_3$  es indicada por niveles detectables de productos de fisión volátiles como Ru-103 y radiodios. En general, la pureza radionucleídica del Tc-99m sublimado de Mo-99 o Mo-99 de fisión es extremadamente alta.

Las impurezas químicas son bajas; particularmente si el  $\text{MoO}_3$  fue calcinado para remover volátiles antes de la irradiación. La pequeña cantidad de  $\text{MoO}_3$  vapor que pasa la "barrera" no se disuelve en solución fisiológica fría y es re movida por la membrana de filtración.

El generador de sublimación es un medio para producir Tc-99m en una escala superior al generador cromatográfico. No es transportable y requiere una celda caliente. Funciona como central de suministro de Tc-99m.

### 3.1.3. El generador por extracción con solvente

La separación del Tc-99m del Mo-99 por extracción con solvente orgánico fue publicada por Gerlit. La técnica se desarrolló como un medio para purificar los eluidos del generador cromatográfico, luego pasó a ser un sistema útil para el uso rutinario en un laboratorio y finalmente a gran escala puede proveer el Tc-99m para toda una nación.

Utiliza el relativamente barato Mo-99 irradiado ( $n, \gamma$ ) y da soluciones de Tc-99m muy concentradas.

Se basa en la extracción de Tc-99m de una solución alcalina de molibdato de sodio (Mo-99) usando metilacetona. Los pasos básicos son:

- . Se coloca la solución acuosa de Mo-99 en contacto vigoroso con MEC.
- . Se dejan separar las fases.
- . Se remueven trazas de Mo-99 de la solución de Tc-99m en MEC por pasoje a través de una pequeña columna de alúmina.
- . Evaporación del MEC de la solución a sequedad en una corriente de aire caliente.
- . Redisolución del residuo de Tc-99m en un pequeño volumen de solución fisiológica.

## 4. REDUCCION DEL $\text{TcO}_4^-$

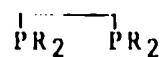
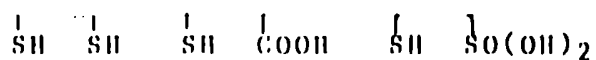
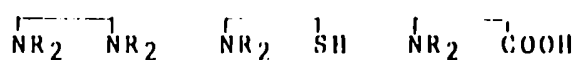
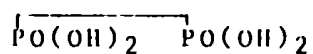
Aparte del pertechnetato (y el sulfuro de tecnecio coloidal) todos los demás radiofármacos del Tc-99m requieren la reducción del Tc(VII) a un estado de valencia más bajo, seguida de la estabilización de esta nueva especie por unión a un ligando. La química redox del tecnecio ha sido ampliamente estudiada y se conocen todos los estados de oxidación desde +7 a -1. Desde el punto de vista de los radiofármacos sólo tienen interés las especies Tc(V), Tc(IV) y Tc(III). Además de la reducción electroquímica, se han usado una lar

ga serie de agentes reductores, aunque en la preparación de radiofármacos el más usado es el cloruro estannoso. El estado de oxidación del tecnecio en los radiofármacos aún no está bien definido; en general se realizan experiencias para estudiarlo empleando para ello Tc-99.

Cuando se usa el método del cloruro estannoso de la forma usual (gran exceso de Sn(II) con respecto al tecnecio) la reacción procede rápidamente y consiste en una reducción por dos electrones del  $Tc(VII)d^0$  a  $Tc(VII)d^2$  y luego prosigue a estados de oxidación más bajos si no hay inhibición cinética. Dependiendo de las condiciones de la reacción pueden producirse diversos complejos. Las preparaciones óptimas consisten en la reducción del pertechnetato a un dado estado de oxidación para la formación del complejo deseado sin reacciones secundarias con el estaño o el tecnecio.

### 5. LIGANDOS

La principal fuente de radiofármacos del Tc-99m son sustancias hidrofílicas que contienen una porción quelante. En general, la formación de complejos ocurre para compuestos que contienen grupos funcionales tales como hidroxilo, carboxilo, amino, mercapto, fosfato, etc., en una distribución molecular apropiada. Más comúnmente se usan ligandos bidentados y multidentados:



Los estados de oxidación más altos del tecnecio prefieren ligandos que sean capaces de compensar la carga positiva muy alta del átomo central. Por ejemplo, el estado de oxidación +5 es estabilizado como oxotecnecio con compuestos que poseen grupos mercapto, amino, hidroxil y carboxil. En los estados de oxidación más bajos prefiere ligandos con donores más suaves tal como azufre, fósforo y arsénico, o ligandos con propiedades de donor  $\pi$ .

El fracaso para "marcar" ciertas sustancias interesantes directamente ha dado como resultado el uso de derivados for-

mados por unión covalente de grupos quelantes (DTPA, IDA, etc.) con la molécula de interés. A estos derivados se los suele llamar bifuncionales.

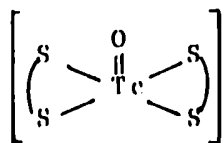
#### 6. FORMACION DEL COMPLEJO

La formación del complejo es un principio insoslayable en la preparación de los radiofármacos del Tc-99m. Consecuentemente, la preparación y las propiedades de los complejos del tecnecio deben considerarse desde el punto de vista de la química de coordinación. Los complejos de tecnecio importantes como radiofármacos son en general cinéticamente inertes. O sea que no deben sufrir in vivo procesos de disociación, intercambio o hidrólisis. Como resultado de la formación del complejo las propiedades del ligando varían notablemente, ya que los grupos funcionales están parcial o totalmente involucrados en la unión con el tecnecio, habiendo un aumento en el tamaño y alteración de la carga. Todos estos fenómenos quedan involucrados en la palabra "marca-ción".

Una de las principales cuestiones es la estructura exacta de los radiotrazadores del Tc-99m que incluye el estado de oxidación, tipo de ligandos, número de coordinación, geometría, así como el tamaño resultante, la carga, la estabilidad del complejo, su reactividad, etc., tanto in vitro, como in vivo.

#### 7. QUIMICA DEL TECNECIO (V)

El tecnecio (V) puede estabilizarse en presencia de un ligando apropiado al se anula la posterior reducción a un estado de oxidación más bajo. Estos complejos se caracterizan por uno o dos grupos oxo unidos al tecnecio. Hay grupos capaces de estabilizar el oxotecnecio (V), que son bidentados o tetradentados. El oxígeno, nitrógeno, azufre, arsénico y fósforo actúan como donores de electrones. Una clase muy bien investigada de éstos involucra un bis(ditiolato) oxotecneciato (V).



Complejo oxotecnecio (V) con ligandos ditiolato

Desde el punto de vista de la radiofarmacia y la radiofarmacología los complejos del Tc(V) han sido usados con varios propósitos:

- . Estudios radiofarmacológicos, por ejemplo los complejos de tiolato.
- Búsqueda de nuevos radiofármacos para riñón: Tc-DADS y derivados.
- Búsqueda de compuestos neutros y catiónicos, por ejemplo complejos de aminas macrocíclicas, complejos N-coordinados, complejos de aminoetanol, complejos de 8-quinolina y sus derivados y complejos de bases de Schiff.

## 8. QUÍMICA DEL TECNECIO (IV)

En solución ácida fuerte, pueden obtenerse fácilmente hexahalotecneclatos por calentamiento de pertechnetato con el hidrácido correspondiente. Con respecto a los radiofármacos del Tc-99m el primer modelo, usando Tc-99, cuya estructura fue determinada por rayos X se preparó a partir de  $(\text{Tc}^{\text{IV}}\text{Br}_6)^{-2}$  y MDP. La estructura del complejo, donde se supone que el estado de oxidación del tecnecio es IV, consiste en cadenas poliméricas infinitas. Cada átomo de tecnecio está unido a dos ligandos MDP, y cada MDP está coordinado a dos átomos de tecnecio. Tal puente entre dos centros de tecnecio que se postula para el modelo polimérico de Tc-99,  $[\text{Tc}(\text{MDP})(\text{OH})]_n$ , no coincidiría con la estructura del agente osteotrópico preparado con Tc-99m, cuya composición aún no está aclarada. Por la existencia de múltiples picos en HPLC y la influencia de la concentración de tecnecio, se supone una naturaleza polimérica causada por la incorporación de complejos de tecnecio en oligómeros de difosfonato-estano.

Debido a los potenciales redox favorables y a la cinética, el pertechnetato puede reducirse fácilmente vía Tc(V) a Tc(IV) o estados más bajos de oxidación. En solución acuosa, en ligandos apropiados, se forma la especie insoluble  $\text{TcO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . En presencia del ligando favorable, se forman quelatos del Tc(IV). La caracterización de éstos indica la presencia de especies monoméricas y poliméricas, dependiendo de la concentración de tecnecio. Por reducción del  $\text{TcO}_4^-$  por iones estannosos en ciertos sistemas, tal como solución de citrato, se pueden obtener especies de Tc(V). La relación entre Tc(V) y Tc(IV) dependerá en todo caso de la concentración de tecnecio. Por la muy baja concentración de tecnecio en las preparaciones de Tc-99m se supone que la especie predominante será el Tc(V).

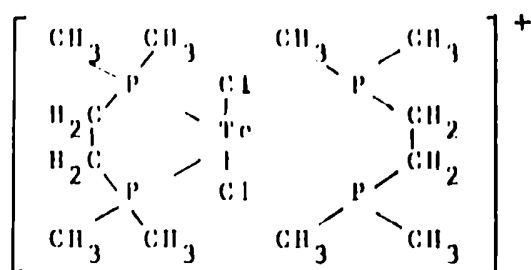
## 9. QUÍMICA DEL TECNECIO (III) Y (I)

El Tc(III) se obtiene rápidamente por reducción con exce

so de cloruro estannoso en buffer DTPA. Sin embargo, es difícil preparar en forma reproducible los complejos que forma el tecnecio con aminopollicarboxilatos (NTA, EDTA, DTPA).

Entre los radiofármacos se ha postulado el Tc(III) para los agentes hepatobiliares derivados del ácido iminodiacético. En este caso se tienen evidencias de la existencia de un complejo moniónico 1:2, con número de coordinación seis. Aquí los ligandos aminopollicarboxilatos O,O-donor, son obviamente capaces de estabilizar la especie Tc(III).

El complejo de tecnecio con el ligando diars (o-fenilen (bis)dimetilarsin), que había sido preparado hace tres décadas, ahora ha sido caracterizado como un complejo de Tc(III), con número de coordinación seis y en una geometría trans-octaédrica. Dos átomos de cloro como ligandos auxiliares están situados en trans uno con respecto al otro y cuatro átomos de arsénico forman el plano basal del octaedro.



Estructura cristalina del trans-[Tc(diars)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]<sup>+</sup>

Este complejo catiónico de Tc(III) es muy importante para la búsqueda de agentes para miocardio. Con respecto a agentes potenciales para miocardio, se han usado ligandos bidentados como fosfinas y arsinas terciarias para preparar complejos de fórmula general (TcD<sub>2</sub>X<sub>2</sub>)<sup>+</sup>, donde D representa el ligando quelante diarsina y difosfina, y X representa cloro, bromo, iodo o pseudohaluros. Con un control apropiado de la reacción esta clase de complejos se pueden obtener con Tc-99m.

El complejo de Tc(I) [Tc(DMPE)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (DMPE~bis(1,2-dimetilfosfina)etano) se acumula también en el miocardio normal y estudios recientes lo dan como un agente muy promisorio.

También debemos mencionar el grupo de los isonitrilos [Tc<sup>I</sup>(CNR)<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, como por ejemplo con R=t-butil y el RP30 (tetraakis(2-metoxi-isobutil-isonitrilo)), que tienen un comportamiento biológico exitoso en animales de laboratorio, cultivo de células y captación en miocardio normal.

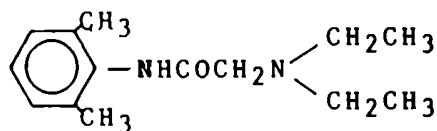
Otro complejo interesante radiofarmacológicamente (miocardiográfico) es el hexakis(trimetilfosfito)tecnecio(I), que es un producto monocatiónico [Tc(P(OCH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>+</sup>.

## 10. RADIOFARMACOS DEL TECNECIO

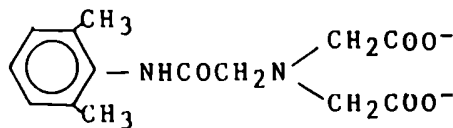
En los sistemas biológicos, los complejos del tecnecio son por naturaleza sustancias hechas a partir de un elemento artificial. Dependiendo de su naturaleza los requerimientos concernientes a estructura química o propiedades, pueden ser muy diferentes, desde las propiedades físicoquímicas (tamaño, lipofilicidad, etc.) a parámetros moleculares. Así, la clave para el diseño de un radiofármaco es la similitud de los complejos del tecnecio con sustancias relevantes desde el punto de vista diagnóstico: sustratos, hormonas, agentes de diagnóstico convencional, etc. En general, tales similitudes no pueden obtenerse "marcando con tecnecio" tales sustancias. Lo que se trata de hacer es "traducir" la estructura del compuesto en cuestión (sustrato orgánico) dentro de los límites de la química de coordinación del tecnecio. O sea se trata de crear "análogos". Daremos algunos ejemplos a continuación.

10.1. Complejos aniónicos: son bien conocidos como radiofármacos los complejos aniónicos, que son excretados vía el sistema de transporte aniónico, por el hígado. Hay reglas conocidas como requerimientos estructurales para la excreción biliar, tal el caso de los complejos de Tc-99m con derivados del ácido iminodiacético.

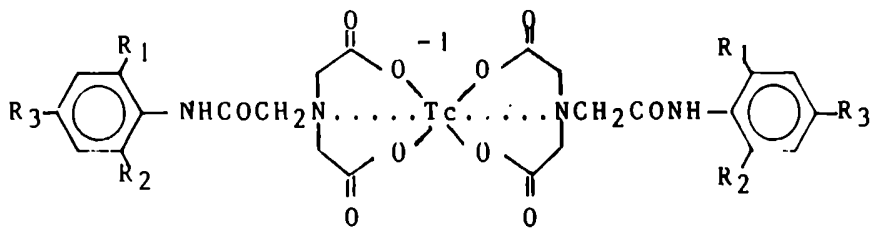
Estos nacieron cuando se trató de diseñar un radiofármaco para miocardio marcando el agente antiarrítmico, lidocaína, con Tc-99m. Intento que falló debido a que el proceso de marcación introduce modificaciones importantes que cambian totalmente el comportamiento biológico de la droga. Sin embargo, el concepto de análogo aplicado a la bilirrubina es útil para entender el comportamiento in vivo de los complejos HIDA-Tc, donde se "tradujo" parcialmente la similitud estructural en términos de la química de coordinación del tecnecio.



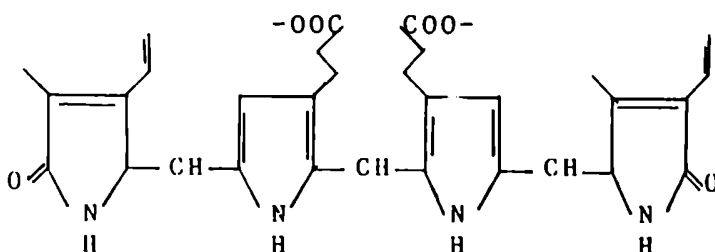
Lidocaína



Ligando dimetil-HIDA



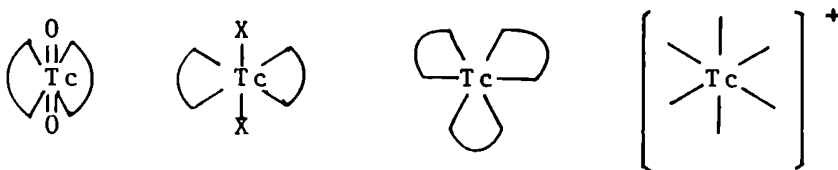
Complejo Tc-HIDA



Bilirrubina

### 10.2. Complejos catiónicos

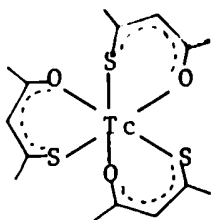
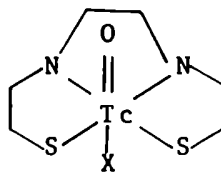
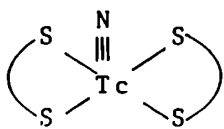
Actualmente se está trabajando sobre el diseño de complejos catiónicos de Tc-99m para que actúen como agentes para miocardio. Estructuralmente podemos esquematizarlos de la siguientes manera:



### 10.3. Complejos neutros lipofílicos

Se han hecho recientes estudios para la preparación de trazadores de Tc-99m lipofílicos, capaces de atravesar la barrera hematoencefálica. El transporte pasivo a través de membranas lipídicas, tal como la barrera hematoencefálica, es posible para sustancias con coeficientes de partición lípidos/agua favorables. Loberg y colaboradores han demostrado que los complejos de tecnecio atraviesan tal barrera en proporción a su lipofilicidad. Así han preparado complejos de tecnecio solubles en lípidos por adición de sustituyentes a IDA, EDTA, DTPA y oxina.

Los complejos de tecnecio con diazotiociclododecanos sustituidos tienen, in vitro, parámetros favorables para el pasaje por la barrera hematoencefálica. Más recientemente han aparecido complejos lipofílicos con ligandos con átomos de azufre que presentan una buena permeabilidad y permanencia dentro del cerebro



### 11. COMPLEJOS DEL Tc-99m CON EL ACIDO IMINODIACETICO N-SUS-TITUIDO

En general estos agentes una vez administrados son extraídos de la circulación por el hígado y excretados en la bilis. La mayoría de los complejos de coordinación del Tc-99m son rápidamente extraídos de la circulación o por los riñones o por el sistema hepatobiliar. La diferencia entre unos y otros está dada por la liposolubilidad.

Jackson y Bolles dieron a conocer un estudio de una larga serie de complejos de tecnecio demostrando que el logaritmo de los coeficientes de partición agua/octanol,  $\ln(a_a/a_o)$ , de estos complejos pueden usarse para predecir su limpieza relativa urinaria/hepatobiliar. Midiendo los coeficientes para una serie de complejos de Tc-99m en función del pH, pudieron determinar las características que permiten una predominancia de la excreción hepatobiliar. Concluyeron que para pH entre 5 y 8, el complejo no debería ser tan lipofílico como para tener un  $\ln(a_a/a_o)$  menor que -2. Además establecieron que la hidrofiliicidad de un complejo debe caer dentro de ciertos límites para minimizar su grado de excreción renal.

Podemos agregar que los complejos de tecnecio muy lipofílicos son rápidamente extraídos de la circulación por el hígado y permanecen allí indefinidamente (probablemente como resultado de la formación de un coloide y fagocitosis por el sistema reticuloendotelial), mientras que los complejos muy hidrofílicos son rápidamente eliminados por excreción renal. Aquellos agentes con las propiedades lipofílicas e hidrofílicas mejor balanceadas son eliminados por vía hepatobiliar.

Cuando se trata de predecir el comportamiento de una determinada molécula marcada con Tc-99m aparece el inconvenien

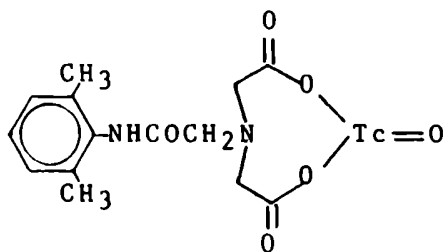


te de la falta de un adecuado conocimiento de la química del tecnecio en tales radiofármacos. McAfee estableció cuatro factores que afectarían la biodistribución de las drogas: 1) tamaño molecular, 2) solubilidad en lípidos, 3) unión a la proteína plasmática y 4) sitios de unión celulares específicos. Aunque McAfee habló sólo de drogas, lo mismo se puede aplicar a precursores bioquímicos, compuestos bioquímicos y otras moléculas pequeñas.

Otro factor a tener en cuenta es el estado de oxidación del tecnecio en los distintos radiofármacos, como así también otros aspectos igualmente importantes, como por ejemplo la carga total del complejo al pH fisiológico. Igualmente importante es el conocimiento de la estabilidad cinética, por ejemplo la velocidad de intercambio con otros ligandos, tales como las proteínas del plasma, la estabilidad con respecto a la oxidación del tecnecio a pertechnetato y la estabilidad termodinámica.

Loberg y sus colaboradores fueron los primeros en utilizar el ácido iminodiacético como grupo funcional para preparar el HIDA-Tc-99m un potencial análogo de la lidocaína, buscando un agente para miocardio. Sin embargo, el comportamiento in vivo del HIDA-Tc-99m reveló una rápida excreción biliar; por lo cual se lo consideró inmediatamente como potencial agente hepatobiliar.

En un intento de explicación de la relación entre la estructura y la excreción biliar de los quelatos de Tc-99m, Firnau sugirió la siguiente estructura:



Sin embargo es conocido el hecho que el ácido iminodiacético forma bis complejos con los metales de transición. Por lo tanto una estructura más probable para el HIDA-Tc-99m es la de bis complejo. Experiencias posteriores demostraron precisamente que se trata de un bis complejo con dos moléculas de HIDA unidas a un átomo de tecnecio. Loberg, usando HIDA-C-14 y Tc-99 demostró que la relación HIDA-Tc en el complejo es 2:1. A partir de estudios electroforéticos se vió además que el complejo es aniónico con una carga -1 o mayor. Además Loberg llegó a demostrar que el estado de oxidación del tecnecio en el complejo es +3.

Una de las principales razones de la utilización del ácido iminodiacético es la relativa facilidad de producir reacciones de sustitución nucleofílica y de esta manera se han sintetizado numerosos análogos. Como ya se mencionó el pri-

mero fue el ácido 2,6-dimetilfenilcarbamoilmetiliminodiacético, HIDA, con similitudes estructurales con respecto a la lidocaína y la metilidocaína.

Para estudiar su comportamiento in vivo se lo inyectó en ratones comparándolo con el MIDA-Tc-99m, ácido metiliminodiacético-Tc-99m. Se comprobó que mientras éste era excretado exclusivamente por vía renal, el HIDA-Tc-99m mostraba una cinética hepatobiliar. Esto demostró que el comportamiento biológico de los ácidos iminodiacéticos N-sustituídos está fuertemente influenciado por la naturaleza química del N-sustituyente.

Uno de los factores más importantes en la evaluación de los ácidos iminodiacéticos es la estabilidad de la unión química del tecnecio y los varios ácidos iminodiacéticos N-sustituídos. La diferencia entre la biodistribución del MIDA-Tc-99m y el HIDA-Tc-99m puede tomarse como evidencia directa de la estabilidad in vivo de ambos radiofármacos. Si la unión entre el Tc-99m y el ácido iminodiacético se disociara y el Tc-99m fuera transferido a otro ligando endógeno, por ejemplo, la albúmina, los dos radiofármacos deberían tener la misma distribución en órganos y tejidos. Una mayor evidencia de la estabilidad del HIDA-Tc-99m fue obtenida en otra serie de experimentos in vivo en los cuales se inyectaron ratones con el contenido de la vesícula y la vejiga de ratones inyectados una hora antes con HIDA-Tc-99m. Se observó que los contenidos de la vejiga y la vesícula dieron idéntica biodistribución que la obtenida originalmente con el HIDA-Tc-99m; lo cual significa que el complejo fue excretado en la misma forma radioquímica original, sin haber sufrido disociación o metabolización. Además ambos contenidos demostraron ser iguales, indicando que la fracción quelato del complejo consiste en un único componente.

Una explicación para la limpieza hepatobiliar del HIDA-Tc-99m puede encontrarse en el hecho que ciertas aminas cuaternarias, similares a la metilidocaína, exhiben una limpieza hepatobiliar. En general, los requisitos para la excreción hepatobiliar son que la molécula posea una porción polar y otra no polar y peso molecular de aproximadamente 300. La región polar puede ser aniónica o catiónica.

El factor más importante para predecir la distribución de los radiofármacos es el conocimiento de la composición radioquímica del quelato. Por ejemplo, cuando se comparó la excreción del HIDA-Tc-99m con respecto al HIDA-C-14 se comprobó el profundo efecto del tecnecio en la distribución en el órgano blanco. En efecto, mientras que más del 75% del HIDA-Tc-99m se excretó por el sistema hepatobiliar, menos del 0,18% del HIDA-C-14 lo hizo por esta vía. Por lo tanto el metal ejerce una gran influencia en la biodistribución del complejo. Como ya se indicó los estudios de Loberg mostraron que la relación molar del dimetil-IDA al tecnecio es 2:1, sugiriendo un bis complejo. También se vio que el estaño no forma parte del complejo, siendo la carga total -1

(figura 7 ).

La necesaria especificidad estructural para la formación de los complejos del Tc-99m con derivados del ácido iminodiacético con propiedades colescintigráficas, además de las características generales de polaridad, tamaño molecular y peso molecular, ha sido identificada como a) sustitución por un diacetato en el nitrógeno de la amina, b) un sustituyente atractor de electrones en beta a la amina y c) un grupo lipofílico separado por una distancia sustancial del grupo hidrofílico. Se forma un complejo estable cuando el nitrógeno imino es sustituido con un grupo carbamoil en posición beta. En particular, la porción carbamoilmetil parece ser crucial para la formación de complejos estables con una muy alta limpieza biliar. La sustitución del grupo carbamoil resulta en un valor de pKa del imino de 6,1. (Figura 8 )

La composición radioquímica de los complejos de Tc-99m que se forman con un pKa significativamente menor que 5, por unión directa al nitrógeno de otros grupos dadores de electrones como bencil o fenil, resulta en complejos inestables. La sustitución imino con grupos con poco carácter dador de electrones da valores de pKa mayores que 8. Estos ligandos producen múltiples productos radioquímicos cuando se complejan con Tc-99m. La sustitución del grupo carbamoilmetil por un carbamoiletal afecta el pKa del nitrógeno imino considerablemente, resultando en un complejo de tecnecio inestable, con baja captación biliar y relativamente alta excreción urinaria.

El efecto de los sustituyentes del grupo fenilo parece ser estérico en su naturaleza y comprende cambios en la lipofilidad que afectan la distribución in vivo y la excreción hepatobiliar.

Cuando se aumenta el volumen de los sustituyentes, el efecto estérico se refleja en el tamaño de los sustituyentes alquílicos en la posición orto, que resulta en variaciones en la velocidad de marcado, estabilidad y número de especies radioquímicas presentes en la mezcla de reacción. Estas diferencias son atribuidas a diferencias en la conversión del producto intermediario o metaestable al producto final.

La unión a la proteína plasmática del agente afecta los parámetros cinéticos in vivo, y esta propiedad parece ser influenciada menos por la posición orto que para los sustituyentes en posición para.

Por la similitud de las características in vivo entre los diversos agentes quelantes y los efectos comunes de algunos sustituyentes en relación a sus respectivas limpiezas renal y hepatobiliar, se puede identificar groseramente cada grupo de la molécula que le confiere características en cuanto a su cinética hepática.

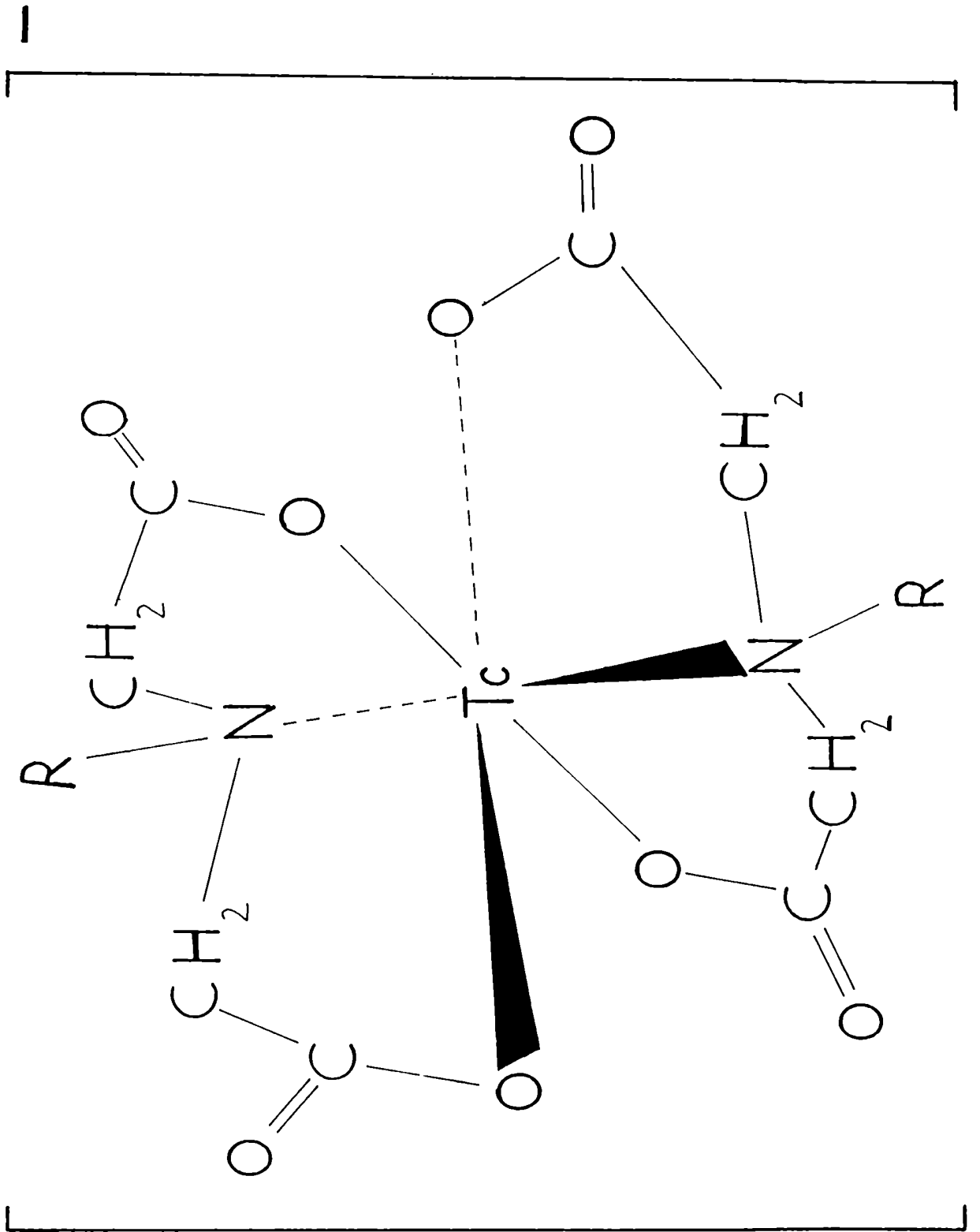


Figura 7 ESTRUCTURA DEL BIS\_COMPLEJO

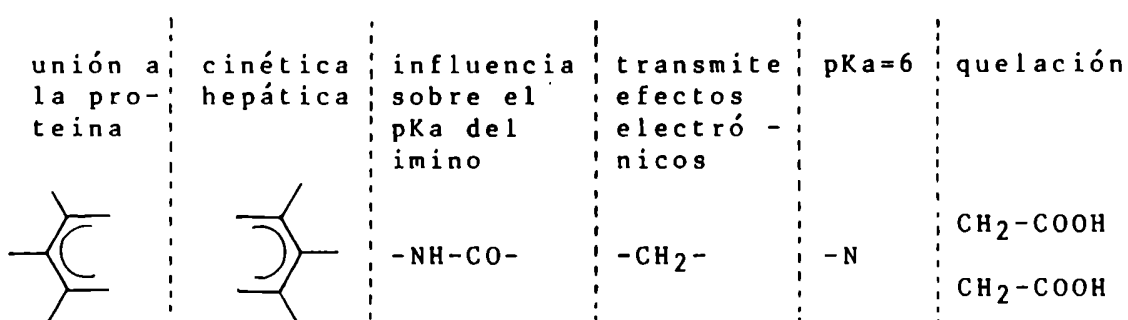


Figura 8 .

La especificidad de estos agentes, que se define como el porcentaje de la dosis administrada excretada en bilis, se ha determinado en pequeños animales por administración del radiofármaco seguida de la medición de la actividad en varios órganos, incluyendo el hígado, intestinos, riñones, orina y sangre a los 30 minutos o 1 hora postinyección.

La velocidad de transporte hepatobiliar para muchos de estos agentes se estudió usando gamma cámara. Para ello el mejor modelo animal es el conejo. Definiendo zonas de interés sobre el hígado, corazón y vesícula biliar se obtienen las curvas de actividad en función del tiempo. Los parámetros evaluados en estas curvas son el  $t_{max}$ , que es el tiempo entre la inyección y la máxima actividad en hígado; el  $t_{50}$ , que es el tiempo entre el  $t_{max}$  y el 50% del  $t_{max}$ ; y el  $t_{\frac{1}{2}}$ , que es la pendiente de la curva de limpieza hepática a  $t_{50}$ .

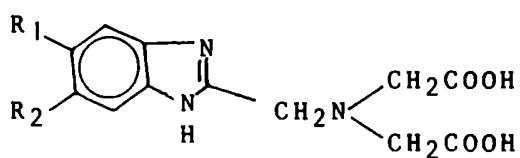
El  $t_{max}$  da una medida de la eficiencia de extracción inicial del trazador, los valores de  $t_{50}$  y  $t_{\frac{1}{2}}$  dan una medida de la eficiencia de extracción en equilibrio. Valores pequeños de  $t_{\frac{1}{2}}$  y  $t_{50}$  indican que el trazador está siendo rápidamente excretado del hígado a la bilis.

Los agentes hepatobiliares deberían tener una captación inicial alta por el hígado,  $t_{max}$  pequeño, y rápida excreción en la bilis,  $t_{50}$  y  $t_{\frac{1}{2}}$  chicos. Los derivados del IDA dimetil, dietil, diisopropil y p-butil usados clínicamente muestran comportamientos diferentes: el dimetil es el de menor especificidad, ésta aumenta cuando se pasa al dietil. El derivado diisopropil tiene una cinética similar al dietil, pero es más resistente a altos niveles de bilirrubina. Por otro lado el derivado p-butil es limpiado rápidamente de la sangre por el hígado, pero se excreta lentamente del hígado a la bilis, además compete exitosamente con altos niveles de bilirrubina.

En 1983 Nunn y colaboradores informaron sobre la preparación de 33 nuevos derivados del iminodiacético, estableciendo que uno de ellos, conocido como Mebrofenin o 3-bromo-2,4,6-trimetil-IDA, presentaba excelentes propiedades biológicas al unirse con el Tc-99m. Klingersmith y otros lo ensayaron y compararon con el diisopropil-IDA-Tc-99m, llegando a la conclusión que tiene menor excreción renal que éste.

En 1984 Subramanian en lugar de utilizar bromo utilizó iodo para colocar en la posición 3 del trimetil derivado, estudiada la biodistribución en conejos demostró que este compuesto tiene aún menor excreción renal que el 3-bromo-trimetil-derivado. Además preparó el 3-iodo-dimetil-IDA y el 3-iodo-dietil-IDA y comprobó que todos estos compuestos forman complejos con el Tc-99m que presentan menor excreción renal y además aumentan la velocidad de limpieza en sangre e hígado, a diferencia de aquellos sin el halógeno en la posición 3.

Los compuestos que acabamos de mencionar no son los únicos, otros autores, por ejemplo Hunt y col han preparado otros derivados utilizando el ácido benzoimidazolilmetilimidodiacético, entre los que podemos mencionar:



#### I BIMIDA COMPLEXONE

Si R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub> se trata del dimetilbenzoimidazolil-IDA, si R<sub>1</sub>=Cl y R<sub>2</sub>=H, es el clorobenzoimidazolil-IDA.

Varios de estos derivados que hemos nombrado son usados actualmente en clínica cumpliendo en grado variable alguna de las características deseadas para los radiofármacos hepatobiliares:

- . Excreción urinaria pequeña o nula
- Rápida captación hepática
- Pasaje rápido al sistema hepatobiliar en individuos normales o ictericos.

RELACION ENTRE LA  
ESTRUCTURA Y LA EXCRECION  
DE DROGAS

Las drogas y sus metabolitos son usualmente eliminadas del cuerpo por excreción en la orina o la bilis o algunas veces en ambas, pero también son posibles otros caminos, tales como la leche materna, saliva, sudor o aire expirado. La excreción puede tener lugar por procesos activos o pasivos, y está influenciada por las propiedades físicoquímicas de la droga.

#### 1. TRANSPORTE PASIVO

Se trata de un proceso donde la fuerza direccional es un gradiente de concentración a través de una membrana y donde el compuesto en cuestión es transportado desde un compartimiento con una dada concentración a otro con una concentración menor. Hay varias propiedades físicoquímicas que influyen en el transporte pasivo de un compuesto. Como sólo la fracción no ionizada y no unida a proteínas es la que puede ser transportada por procesos pasivos, el valor del pKa de la droga y el grado de unión a la proteína influyen en la cantidad disponible para ser transportada a través de las membranas por difusión pasiva.

#### 2. TRANSPORTE ACTIVO

El transporte activo puede tener lugar contra un gradiente de concentración y está relacionado íntimamente al metabolismo celular. El transporte activo ha sido muy bien estudiado en el riñón, donde aniones y cationes orgánicos son secretados por dos mecanismos diferentes. Una gran cantidad de aniones orgánicos son transportados activamente por el túbulo proximal. Comúnmente el anión es un grupo carboxilo, pero también son transportados por este mecanismo ácidos sulfónicos como el rojo fenol. También es conocido el hecho que procesos metabólicos que involucran conjugación dan como producto aniones que son secretados por este mecanismo. Se han hecho muchos intentos tratando de caracterizar los requerimientos estructurales para este tipo de transporte pero ninguno es totalmente satisfactorio. Ejemplos de aniones orgánicos que son excretados activamente por el riñón:

ácidos monocarboxílicos: ácidos acéticos, aminoácidos, benzoatos, hipuratos, glucurónidos, heterociclos.

ácidos dicarboxílicos, ácidos sulfónicos, sulfonamidas, tiazidas.

El mecanismo de transporte para las bases orgánicas es análogo al de los aniones, pero está claramente separado de éste. La analogía entre la excreción de bases y ácidos en el riñón es que ambos son excretados en el túbulo proximal del



riñón.

Se ha demostrado que hay competencia por el transporte y que se trata de un proceso dependiente de la energía. El sistema de transporte para ácidos y bases es diferente, ya que inhibidores de un sistema no inhiben el otro. Ejemplos de bases orgánicas que son excretadas activamente por el riñón:

colina, guanidina, metilguanidin, histamina, N<sup>1</sup>-metilnicotinamida, piperidina, lincomicina, morfina, tetrametilamonio, tetraetilamonio, tetrabutilamonio.

### 3. REABSORCION

Se comprueba que algunos compuestos que son secretados por el túbulo no necesariamente son excretados en grandes cantidades en la orina. Esto es consecuencia de la reabsorción tubular. Mientras que la secreción es activa, la reabsorción de la mayoría de los compuestos es pasiva y depende primariamente de la permeabilidad del epitelio tubular a la porción no ionizada del ácido o base considerados. El grado de reabsorción está relacionado con la liposolubilidad de la fracción no ionizada. Se ha comprobado que el grado de reabsorción está inversamente relacionado con el coeficiente de partición cloroformo/agua.

Puesto que la reabsorción aparece como un proceso de difusión, la magnitud de la reabsorción depende del gradiente de concentración de la fracción no ionizada del fluido tubular al espacio peritubular, y esto, a su vez, está influenciado por el pH y volumen de los fluidos tubulares. Como consecuencia, el flujo de orina y el pH son factores importantes en el grado de excreción de ácidos y bases débiles. En relación a esto es obvia la importancia del pKa de la droga en relación al grado de reabsorción de la misma. Puesto que la forma no ionizada de un ácido débil o base débil tiende a difundir desde la orina tubular de vuelta a las células tubulares, sería obvio que la acidificación aumentará la reabsorción de los ácidos débiles, cuyo pKa está dentro del rango neutro y promueve la excreción de las bases débiles, cuyo pKa está en el mismo rango.

### 4. EXCRECION DE DROGAS EN LA BILIS

La excreción biliar de compuestos endógenos y exógenos, junto con la eliminación en la orina, constituye uno de los mecanismos principales de eliminación. Sin embargo, se debe recordar que los compuestos excretados en la bilis pueden reabsorberse del tracto intestinal y así tomar parte de la circulación enterohepática. La mayoría de los compuestos sufren metabolización previa a la excreción en la bilis. Hay tres factores que influyen en la excreción biliar de las drogas:

- tamaño molecular
- polaridad

### estructura molecular

#### a) Tamaño molecular

Ha sido demostrado que la excreción biliar juega un papel importante en la eliminación de aniones, cationes y moléculas no ionizadas que contienen grupos polares y lipofílicos y con un peso molecular mayor que 300. Las moléculas más pequeñas sólo se excretan en cantidades insignificantes en la bilis, puesto que son reabsorbidas de la bilis primaria cuando pasan a través de los canalículos más pequeños. Para cada uno de los grupos de drogas mencionados anteriormente existiría un transporte activo mediado por carriers. Esto es así ya que el transporte se produce contra un alto gradiente de concentración, son comunes las relaciones concentración en bilis/concentración en plasma de 50/1 o mayores. Además, si la concentración de la droga en plasma aumenta progresivamente, se llega a una velocidad límite de secreción que no puede ser superada (transporte máximo).

Por último, varios miembros de la misma clase (anión, catión o no ionizada) compiten, uno deprimiendo la excreción biliar de otro, pero no hay competencia entre miembros de diferentes clases.

Probablemente hay un límite superior en cuanto al peso molecular para la excreción en la bilis, ya que compuestos como la inulina, con peso molecular alrededor de 5000, o proteínas se excretan en la bilis sólo en cantidades de trazas.

#### b) Polaridad

Otro requerimiento para la excreción biliar parece ser la presencia en la molécula de un grupo fuertemente polar. Este grupo puede ser un ácido carboxílico o sulfónico o grupo amino cuaternario. Estos grupos permiten que la molécula exista como especie soluble en agua al pH fisiológico. Así, por ejemplo, el sulfatiazol y su N-acetil derivado son excretados pobremente en la bilis. Sin embargo, cuando se reemplaza el grupo acetilo por succinilo, resulta en un marcado ascenso en la excreción biliar, aunque el cambio en el tamaño molecular es relativamente pequeño.

La excreción biliar de algunos compuestos de amonio cuaternario y aminas terciarias después de la administración intravenosa de compuestos marcados muestra que sólo una pequeña fracción de la radiactividad eliminada en la bilis es atribuible a los compuestos originales. Los metabolitos son presumiblemente conjugados que parecen ser más polares que los compuestos originales.

Otro grupo de sustancias que son altamente excretadas en bilis son ciertos glicósidos naturales. Estos no pueden ser ionizados y aparecen en bilis sin carga. Sin embargo, parece que la porción soluble en agua del azúcar de los glicósidos provee la polaridad requerida para la excreción biliar.

c) Estructura molecular

En ciertas situaciones se ha encontrado que la introducción de un grupo dentro de una molécula puede aumentar la excreción biliar en proporción comparable a la de un cambio en el tamaño molecular o la polaridad. Por ejemplo, la excreción biliar del 4-hidroxibifenilglucurónido aumenta de 60 a 90% si se introduce un grupo hidroxilo en la molécula como en 4,4'-dihidroxibifenilglucurónido. La excreción biliar del sulfatiazol aumenta de 4 a 19% si se introduce un grupo ftalil en la molécula. Sin embargo, este efecto es mucho más pronunciado si el anillo bencénico es sustituido por un ciclohexano. Aunque el peso molecular cambió en seis unidades esto resultó en un cambio en la excreción de 19 a 66%.

La importancia relativa de los tres factores mencionados no está aclarada. Sin embargo, se puede observar que muchas moléculas que son excretadas en bilis contienen un grupo polar y otro no polar. En este sentido recuerdan a las sales biliares que consisten en una porción esteroide no polar y una cadena lateral altamente polar compuesta de un residuo glicina o taurina. Sin embargo, moléculas altamente polares o no polares son excretadas pobremente en la bilis. Así, ni el dieldrin, muy lipofílico, ni el ácido hipúrico, altamente polar son excretados en la bilis. Es posible que para que ocurra una buena excreción biliar es necesario un balance crítico entre los aspectos polares y no polares de la estructura molecular.

HIGADO Y VESICULA BILIAR

## 1. FISIOLOGIA HEPATICA

La unidad anatómica y funcional del hígado es el lobulillo hepático, está formado por las células hepáticas o hepatocitos, dispuestas en columnas separadas por capilares, sinusoides sanguíneos y los capilares biliares. La vena porta se ramifica rodeando los lobulillos; la sangre de estas venas mezclada con la sangre que llega de las arteriolas, ramas de la arteria hepática, pasa entre las células por los capilares vasculares, para llegar a la vena central, rama de la vena hepática.

Los capilares sanguíneos no poseen pared endotelial propia, pero presentan a intervalos las células de Kupffer, que forman parte del sistema reticuloendotelial. La bilis se forma dentro de las células hepáticas y desemboca en los capilares biliares, separados de los capilares sanguíneos por tejido celular hepático, para pasar a los conductos hepáticos (figura 9).

Las funciones de la glándula hepática son numerosas, las principales son:

- **Secreción biliar:** la bilis se produce en el hígado en forma continua y se almacena y concentra en la vesícula biliar, de manera que su composición varía según se trate de bilis hepática o bilis vesicular.

La bilis hepática es de color amarillo dorado en el hombre, mientras que la bilis vesicular es de color amarillo verdoso oscuro; la primera es ligeramente alcalina, pH 7,4 y la segunda es ligeramente ácida, pH 5,5.

La cantidad de bilis producida por el hígado en las 24 horas es de unos 700 ml y sus componentes principales son las sales de los ácidos biliares o sales biliares, los pigmentos biliares y el colesterol (Figura 10).

Los ácidos biliares son los constituyentes más importantes, siendo los principales el ácido glicocólico y el taurocólico, que existen como sales sódicas. Los ácidos biliares se forman en el hígado a partir del colesterol, pasan por la bilis al duodeno y son reabsorbidos en el íleon principalmente para volver al hígado por la vena porta y secretarse de nuevo en la bilis, circulación enterohepática.

Los pigmentos biliares son la bilirrubina (amarilla), la principal, y la biliverdina (verde), producto de oxidación de la primera. Esta se forma en el sistema reticuloendotelial a partir de la hemoglobina, circula por la sangre y es excretada por los hepatocitos a las vías biliares.

El colesterol proviene de los alimentos y se sintetiza en el organismo, principalmente en el hígado; es excretado en la bilis, llegando así al intestino.

La acción digestiva de la bilis se debe exclusivamente a las sales de los ácidos biliares, siendo los demás compo

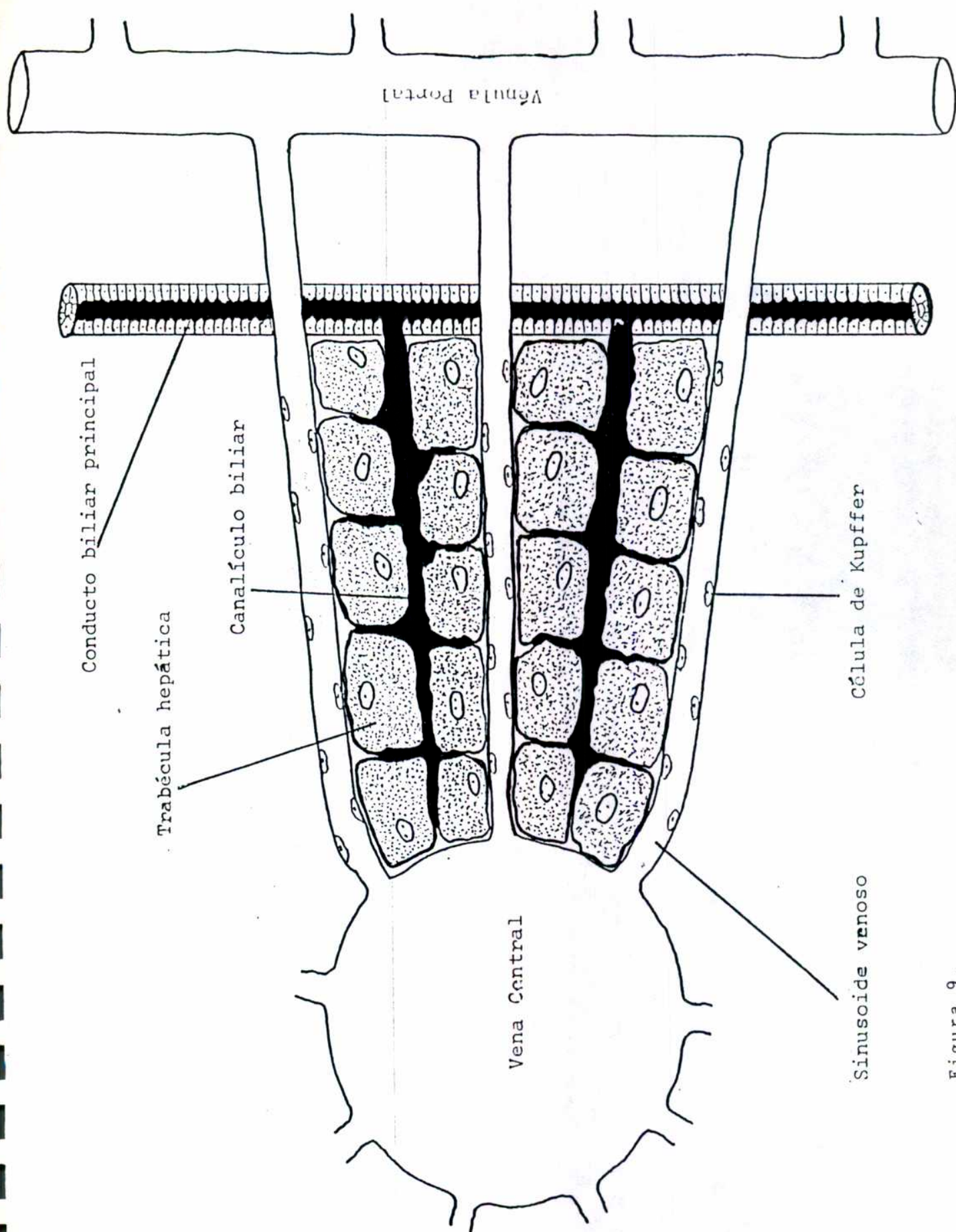
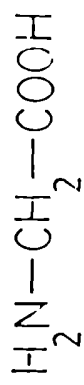
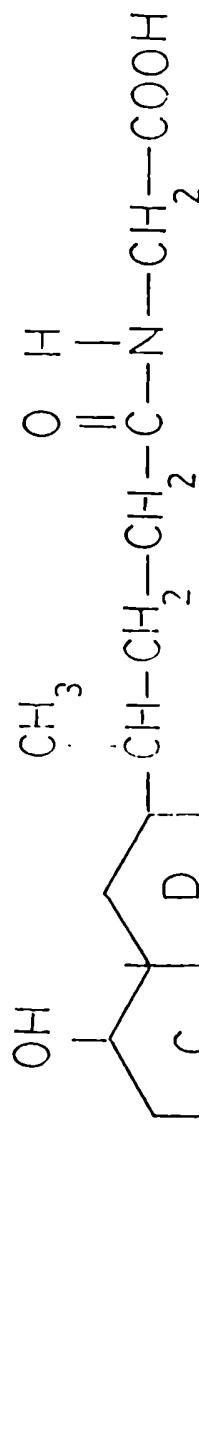
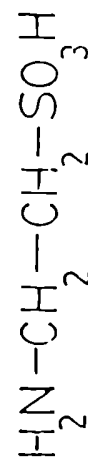


Figura 9.

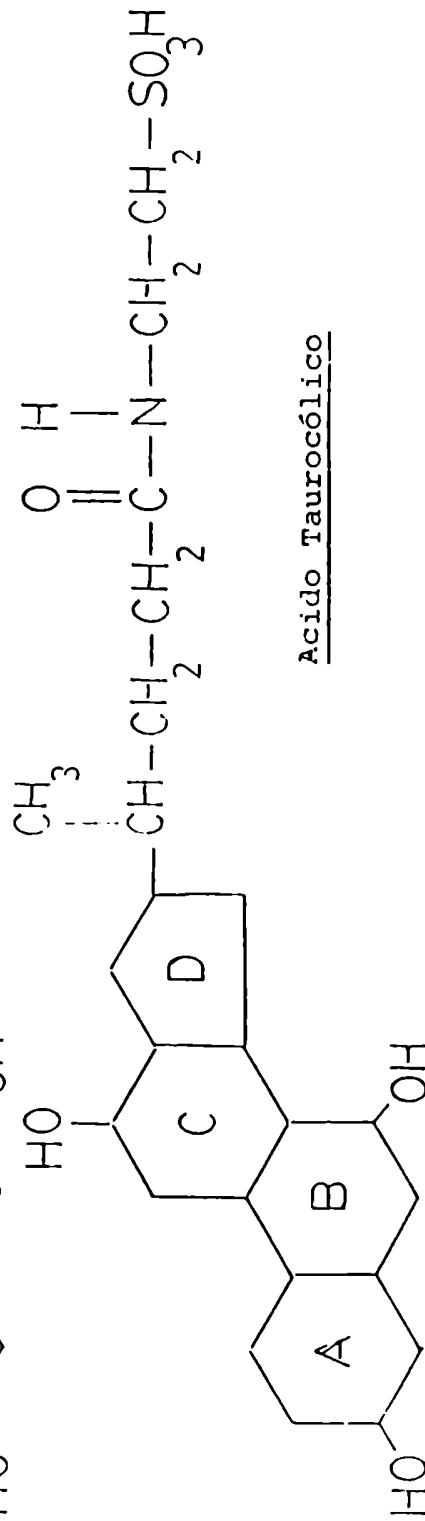
Glicina



Taurina



Acido Glicocólico



Acido Taurocólico

Figura 10. Acidos biliares

nentes productos de excreción; aquellos desempeñan un importante papel en la digestión y absorción de las grasas y vitaminas liposolubles.

La secreción de la bilis por el hígado o coleresis es un proceso continuo, a diferencia del proceso de expulsión de aquella al intestino o colagogia, que es intermitente.

Funciones metabólicas: el hígado ejerce funciones fundamentales en el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y grasas.

El papel del hígado en el metabolismo hidrocarbonado es:

a) lugar de formación de la glucosa sanguínea y regulación de la glucemia;

b) formación de glucógeno a partir de los monosacáridos y su desdoblamiento en glucosa.

En lo que respecta a las proteínas, el hígado:

a) sintetiza las proteínas del plasma;

b) es el lugar de desaminación de los aminoácidos;

c) es el sitio de la formación de urea.

En el metabolismo de las grasas, el papel del hígado es:

a) almacenamiento de grasas en tránsito de los depósitos para su utilización;

b) formación de fosfolípidos, estado en que se movilizan las grasas del hígado;

c) desdoblamiento de las grasas y formación de cuerpos cetónicos, que son oxidados en los tejidos.

Hematopoesis y coagulación sanguínea: a este respecto, el hígado:

a) almacena la vitamina B<sub>12</sub>, factor antianémico necesario para la maduración de los eritrocitos;

b) sintetiza fibrinógeno, protrombina y otros factores de la coagulación;

c) es el lugar de destrucción de los eritrocitos (células de Kupffer);

d) formación de heparina.

Funciones de desintoxicación: el hígado produce la transformación de diversas drogas y sustancias tóxicas formadas por el organismo:

a) por oxidación;

b) por reducción;

c) por conjugación con ácido sulfúrico, ácido glucurónico, ácido acético y glicina.

## 2. FISIOLOGIA DE LAS VIAS BILIARES

La bilis sale del hígado por dos conductos hepáticos que se reúnen formando el colédoco, al que llega a su vez el conducto cístico, desembocadura de la vesícula biliar. El colédoco termina junto con el conducto pancreático de Wirsung en la ampolla de Vater, que se abre en el duodeno; en la ter



minación del colédoco se encuentra el esfínter de Oddi (figura 11).

Las funciones de la vesícula biliar son de almacenamiento, absorción, secreción y motilidad.

Almacenamiento de bilis y absorción: durante el ayuno el esfínter de Oddi está cerrado o sea contraído y como la bilis se produce continuamente, cuando su presión alcanza a 70 mm de agua, comienza a pasar a la vesícula. Allí se almacena y concentra, por absorción de agua y sales, unas 10 veces, de manera que 50 ml de bilis vesicular contienen los principios activos de 500 ml de bilis hepática.

Secreción: la mucosa vesicular secreta mucus y probablemente colesterol, que se añaden a la bilis.

Movimientos de la vesícula: la vesícula biliar posee un tono postural, adaptándose a su contenido y mantiene en su interior una presión más o menos constante. Las contracciones de la vesícula pueden ser producidas experimentalmente por estimulación parasimpática. Fisiológicamente, el estímulo más eficaz de la contracción es la ingestión alimenticia, siendo la de grasas la más efectiva.

Respecto al mecanismo de la contracción vesicular, existe un factor nervioso vagal, pero lo más importante es el factor hormonal; los alimentos, actuando en la mucosa duodenal, producen la liberación de la colescistoquinina, que, por vía sanguínea, estimula la contracción vesicular.

Evacuación de la bilis: durante la digestión, el esfínter de Oddi se relaja al mismo tiempo que se contrae la vesícula biliar, por los factores citados, con lo que la bilis penetra en el duodeno. Esta sincronización entre relajación esfinteriana y contracción vesicular se debe a un mecanismo de inervación recíproca, probablemente de naturaleza refleja.

### 3. REGULACION DE LA SECRECION HEPATOBILIAR

El proceso de transporte activo que existe en los hepatocitos es mediado por cuatro transportadores (carriers) unidos a la membrana. Existen transportadores individuales para aniones, cationes, sustratos neutros y sales biliares, en la membrana celular. Estos transportadores compiten con las proteínas del suero por la droga libre. Dentro del hepatocito, los sustratos pueden unirse y/o metabolizarse antes de ser excretados en la bilis. La bilirrubina y otros aniones orgánicos se unen a sitios de almacenaje, tal como la ligandina (proteínas Y y Z). Con o sin metabolización, la secreción debe ocurrir en la bilis dentro de los canalículos biliares. Al menos dos procesos son responsables por la secreción en los canalículos: el transporte activo de los ácidos biliares en el lumen canalicular y la producción de las sales biliares independiente de la fracción canalicular, la cual debe involucrar el transporte activo del sodio. A medi

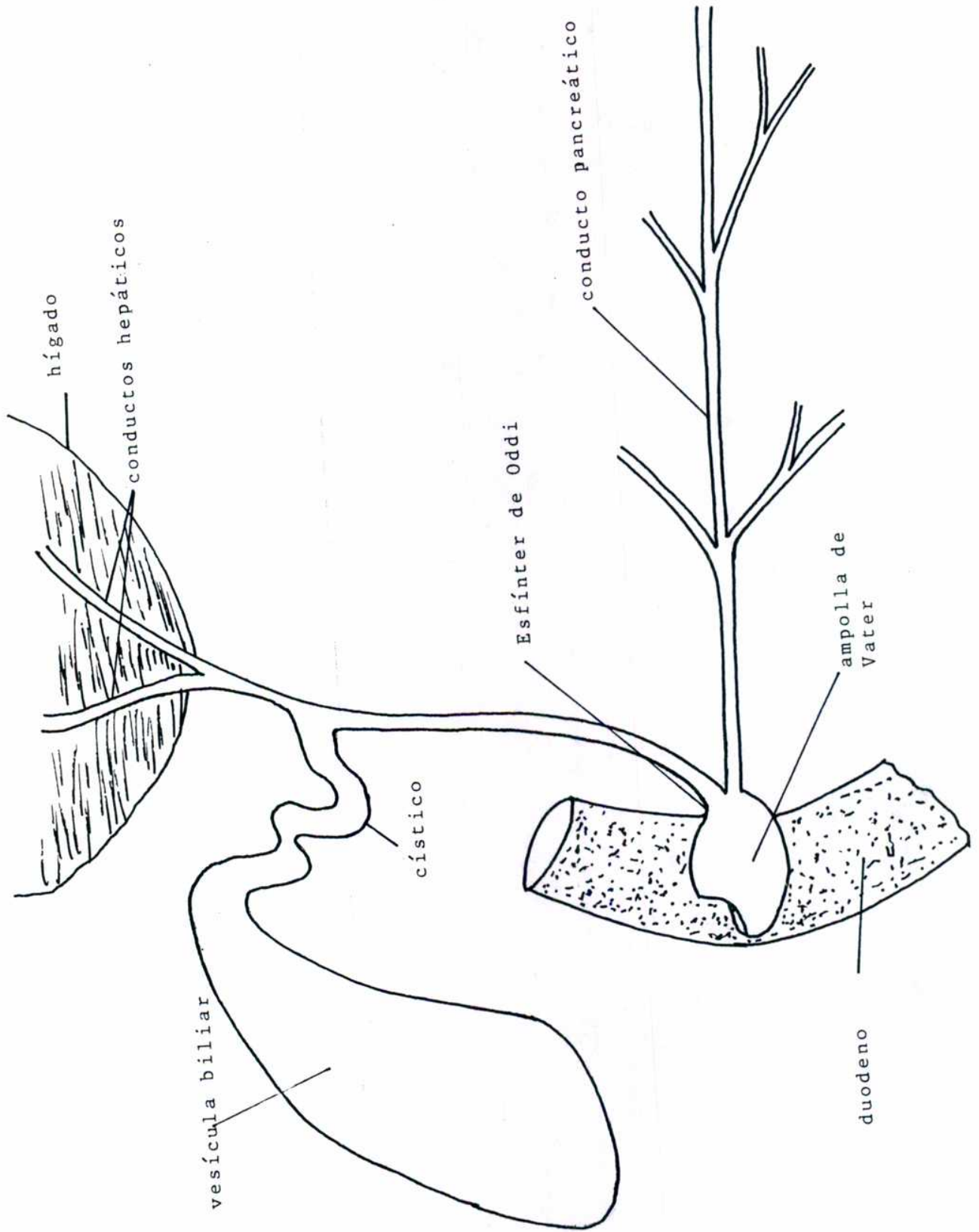


Figura II. VESÍCULA Y VIAS BILIARES

da que la bilis canalicular se mueve en los ductos biliares, la secreción debe ser modificada por adición o absorción de agua y electrolitos del epitelio o de drogas xenobióticas, que son secretadas en los canalículos o por hormonas que actúan en el epitelio secretor de los túbulos biliares. La bilis puede entrar en el duodeno directamente, o puede fluir en la vesícula donde es concentrada, almacenada y subsecuentemente pasa a los intestinos durante las contracciones vesiculares. El vaciado de la vesícula es primeramente mediado por la colecistoquinina circulante secretada después de los alimentos en la sangre por las células de la parte alta del tracto intestinal.

#### 4. FARMACOCINETICA DE LOS AGENTES DE VISUALIZACION HEPATOBILIAR

Los radiotrazadores son eliminados del organismo por alguno de los cuatro procesos que exhiben farmacocinética de Michaelis-Menten no lineal. Estos procesos poseen una velocidad máxima,  $V_{max}$ , esto es la velocidad no continúa aumentando aunque la concentración del radiotrazador aumente y la velocidad de distribución cambiará de una cinética de primer orden a una de orden cero. El transporte mediado por carrier del radiotrazador es también impedido por la unión competitiva a varios inhibidores, cuyo transporte depende del mismo carrier y el mismo sitio de almacenamiento. Así, la captación y excreción de los trazadores no sólo no tendrá una farmacocinética no lineal, sino que los patrones de distribución in vivo están influenciados por la concentración sérica de varios inhibidores. Las características de inhibición limitan la utilidad clínica de varios agentes, como es el caso de la excreción hepatobiliar del HIDA-Tc-99m y el Rosa de Bengala-I-131, los cuales se ven inhibidos cuando aumenta la concentración sérica de bilirrubina. Bajo estas condiciones, más que el estado hepatobiliar del paciente, es la bilirrubina sérica la determinante de la cinética in vivo y es así como el radiotrazador es confinado al espacio extravascular o excretado en la orina.

La cinética in vivo de los agentes colescintigráficos está representada convenientemente en el modelo farmacocinético, que describe la distribución in vivo del HIDA-Tc-99m (Figura 12).

Las constantes individuales  $K_{21}$ ,  $K_{12}$ ,  $K_{42}$  y  $K_{31}$  dependen del agente hepatobiliar empleado, la patofisiología del sistema hepatobiliar y/o el estado de la función renal. Un aumento de la constante  $K_{21}$  o disminución de la  $K_{31}$  aumenta la especificidad hepatobiliar. El tiempo de tránsito hepatobiliar, que se refleja en la relación bilis:hígado, depende principalmente de la constante  $K_{42}$  y es alterado por cambios en las otras constantes. La cuantificación de la función del hepatocito requerirá un agente donde  $K_{21}$  y  $K_{12}$  sean independientes de la competencia con la bilirrubina endógena.

Estas constantes para el HIDA-Tc-99m, como para otros agentes hepatobiliares, parecen variar en función del nivel de bilirrubina del paciente, puesto que se supone que la bilirrubina compite con el radiotrazador por los sitios de transporte. Así, la competencia entre el radiotrazador y la bilirrubina por la ruta de transporte complica los modelos farmacocinéticos simples, en el intento de cuantificar la función hepática y no reflejan adecuadamente el estado hepatobiliar del paciente.

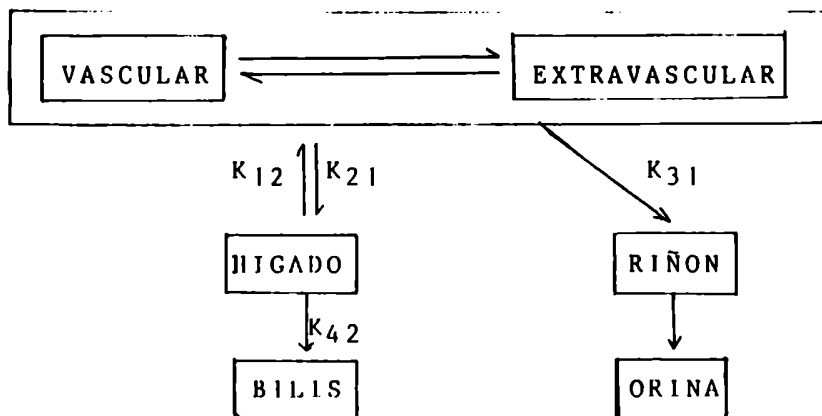


Figura 12. Modelo farmacocinético para agentes colescintográficos

MATERIALES Y METODOS

## 1. INSTRUMENTAL

### Espectrómetro:

Alfanuclear. Modelo M.O.S. con fuente de alta tensión que alimenta a un detector con un cristal de NaI(Tl) de 1 3/4" de diámetro y 2" de altura (44,5 mm x 5,80 mm) con fotomultiplicador de 2" de diámetro. El pozo posee las siguientes dimensiones: 39,3 mm de profundidad por 16,6 mm de diámetro, resultando un volumen de 85 ml. El blindaje está constituido por cinco anillos imbricados de 50 mm de espesor y 50 mm de altura.

### Espectrómetro Auto-gamma:

Packard. Serie 5000 con modo automático de operación y con capacidad para 50 muestras. El detector está compuesto por un cristal de NaI(Tl) de diámetro por 2" de altura, con un fotomultiplicador de once dínodos.

### Cámara Gamma:

Ohio Nuclear. Modelo Sigma 400 acoplada a un computador bip 460. Posee un juego de colimadores intercambiables para baja, media y alta energía con orificios paralelos y divergentes.

### Calibrador de dosis:

Capintec. Modelo CRC-30 con posiciones precalibradas para siete isótopos (Tc-99m, Mo-99, Ga-67, I-123, I-131, In-111 y Xe-133) y mediante un selector manual para 200 isótopos más. Con cambio automático de rango desde  $\mu$ Ci hasta Ci y con obtención de datos en el visor numérico de cuatro dígitos o bien en el registrador Capintec modelo CRC-PV.

Posee programas para calcular la actividad específica de hasta 19 muestras, además de efectuar en cada una de ellas las correcciones por decaimiento radiactivo.

### Radiocromatógrafo:

Berthold. Modelo LB 2723, con un detector de radiación gamma compuesto por un cristal de NaI(Tl) de 20 mm de diámetro por 20 mm de altura, con una distancia focal de 20 mm. Adosado a un fotomultiplicador con una tensión de trabajo de 1295 volt. Las velocidades de corrida de lectura pueden variarse en 12, 30, 60, 120, 300, 1200

3000, 12000 y 30000 mm/h.

El sistema es alimentado por una fuente de alto voltaje con regulación entre 400 y 4200 volt, marca Berthold, modelo LB 2417, los pulsos son amplificados y discriminados con el módulo Berthold LB 2426 e integrador Berthold LB 2437.

## 2. MODELOS BIOLÓGICOS

### 2.1. Ratones

El ratón blanco "swiss", utilizado en la parte experimental, es una variedad albina del ratón común, que posee pelaje gris, y sus características constan en el catálogo del National Institute of Health.

Fueron endocriados y alimentados con pellet de fórmula abierta. En el momento de ser utilizados poseían un peso de 28 a 30 g y su edad estaba comprendida entre 45 y 60 días.

### 2.2. Ratas

Es un roedor de pelaje blanco con el iris y las extremidades de las patas rosadas, hocico puntiagudo, cuello alargado y cola recubierta con escamas.

En el catálogo del National Institute of Health se encuentran detalladas las características de la cepa utilizada, o sea la rata Wistar. Al momento de ser utilizados estos animales poseían un peso de 250-300 g y una edad entre 70 y 30 días.

### 2.3. Conejos

La American Rabbit Breeders Association presenta en sus catálogos aproximadamente 28 razas y alrededor de 70 variedades. Se utilizaron animales de 3500 a 4500 g de peso.

## 3. N-DERIVADOS DEL ACIDO IMINODIACETICO

### 3.1. Síntesis y control

Para la obtención de los distintos N-derivados se eligió el método publicado por Loberg y col, al cual se le introdujeron algunas modificaciones que permitieron elevar el rendimiento de reacción de los intermediarios y del producto final.

Se sintetizaron el ácido N-(2,6 dimetilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético o Hida 1, el ácido N-(2,6 dietilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético o Hida 2, el ácido N-(2,6 diisopropilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético o Hida 3 y el ácido N-(4 butilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético o Hida 4. Para estos cuatro compuestos el esquema de síntesis es el que se detalla en la figura 13.

R = R' = -CH<sub>3</sub>; -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; -C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>

Y = -C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>

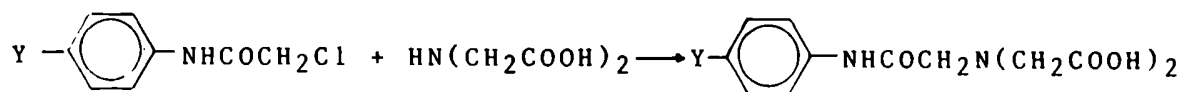
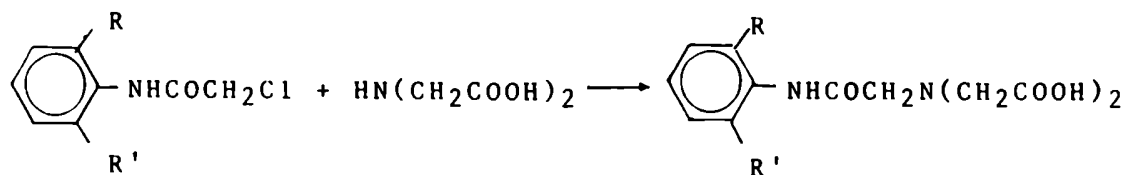
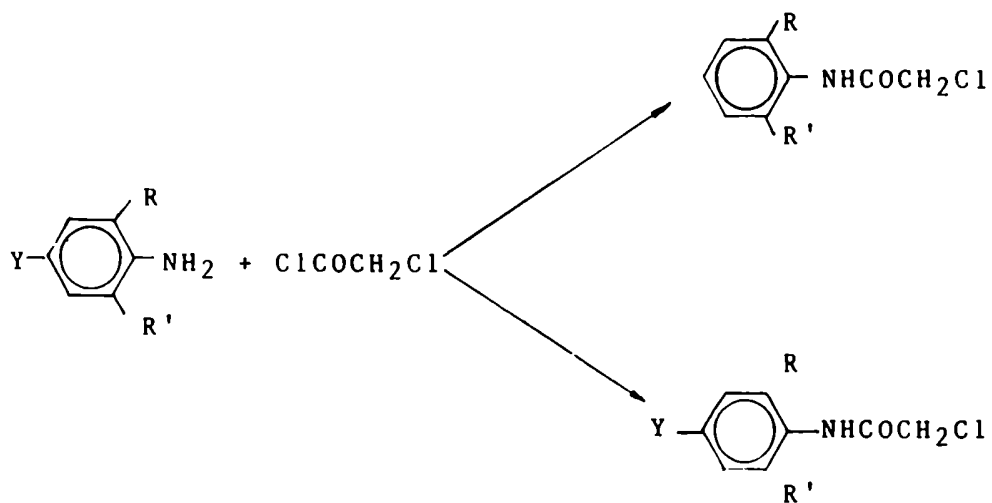


Figura 13. ESQUEMA DE SINTESIS DE LOS N-DERIVADOS DEL ACIDO IMINODIACETICO



Por otro lado se produjeron el ácido N-(2,6 diisopropilfenilcarbamoiletíl 1-)iminodiacético o Hida 5 y el ácido N-(4 butilfenilcarbamoiletíl 1-)iminodiacético o Hida 6. El esquema de síntesis es el que se detalla en la figura 14.

También se sintetizó el ácido N-(4 butilfenilcarbamoiletíden)iminodiacético o Hida 7, cuyo esquema de síntesis se observa en la figura 15.

En cuanto a los derivados halogenados se sintetizaron los siguientes: el ácido N-(3 bromo 2,6 dietilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético o Mebrofenin, el ácido N-(3 iodo 2,4,6 trimetilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético o Iodofenin y el ácido N-(4 iodo 2,6 dietilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético o Iodo-dietil-Ida.

Para la síntesis del derivado bromado se siguió el método de Callery y col que fue modificado para mejorar el rendimiento (Figura 16).

Al análogo trimetiliodado se sintetizó siguiendo el esquema de la figura 17.

En la figura 18 se detalla el esquema de síntesis del derivado dietil-iodado.

Por último se produjo la síntesis del ácido iminodibenzilcarbamoilmetiliminodiacético o Hida 10. (Figura 19)

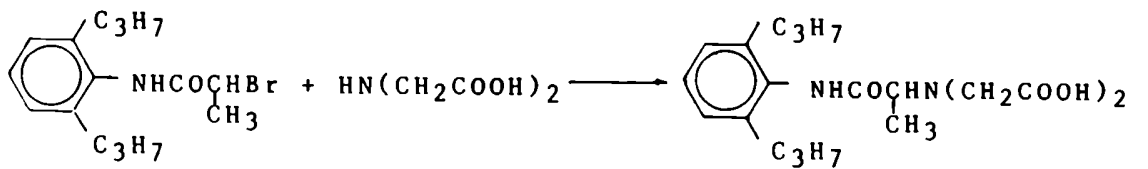
Los compuestos sintetizados fueron controlados mediante la determinación del punto de fusión, espectros de resonancia magnética nuclear, fórmula centesimal y espectrometría de masa.

Los puntos de fusión fueron determinados mediante un equipo Kofler y no fueron corregidos.

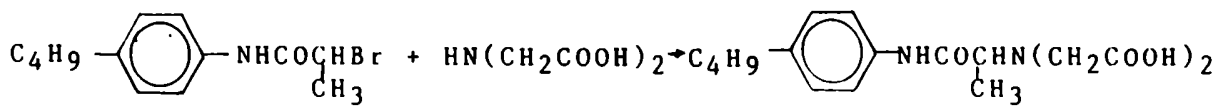
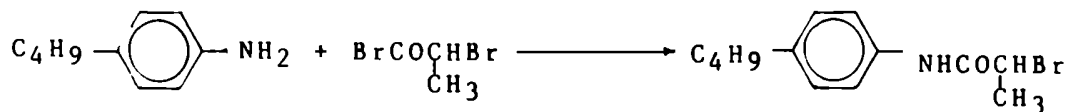
Los espectros de resonancia magnética nuclear fueron realizados a 100 MHz utilizando un espectrómetro Varian KL-100-15 en solución de dimetilsulfóxido deuterado, utilizándose tetrametilsilano como patrón interno; los desplazamientos químicos fueron expresados en unidades (ppm), indicando la multiplicidad como se señala a continuación:

- s (singulete)
- d (doblete)
- t (triplete)
- c (cuarteto)
- m (multiplete)
- b.a. (banda ancha)

Los espectros de masa fueron determinados a 70 eV mediante el empleo de un espectrómetro Varian-Mat-CH-7A, comandado mediante una computadora Varian-Mat-Data System 166, con inserción directa de la muestra.



HIDA 5



HIDA 6

Figura 14. ESQUEMA DE LA SINTESIS DEL HIDA 5 y 6

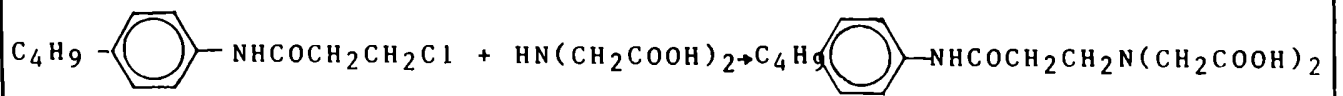
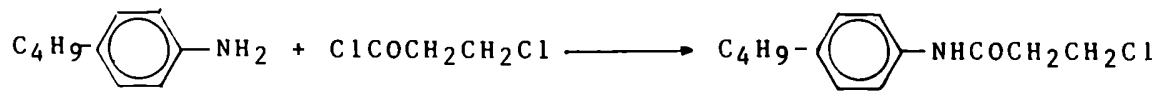


Figura 15. ESQUEMA DE LA SINTESIS DEL HIDA 7

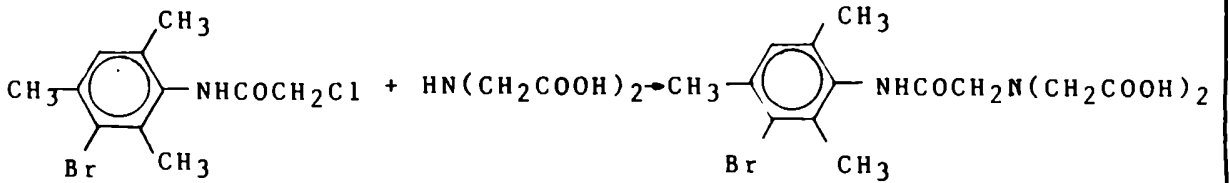
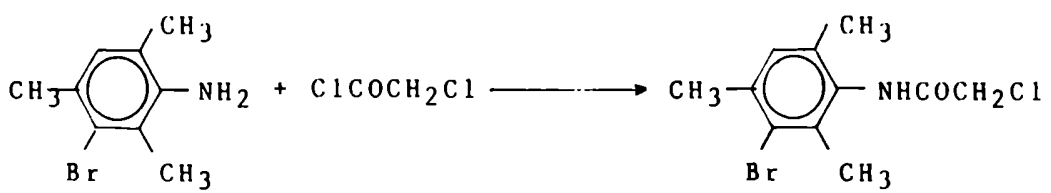
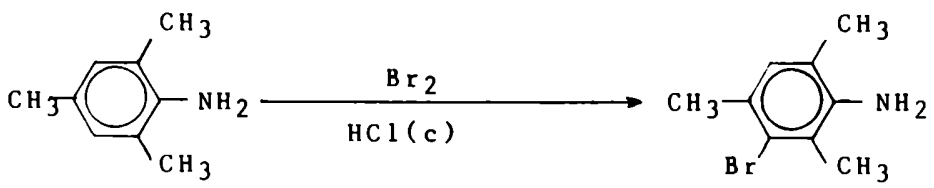


Figura 16. ESQUEMA DE SINTESIS DEL MEBROFENIN

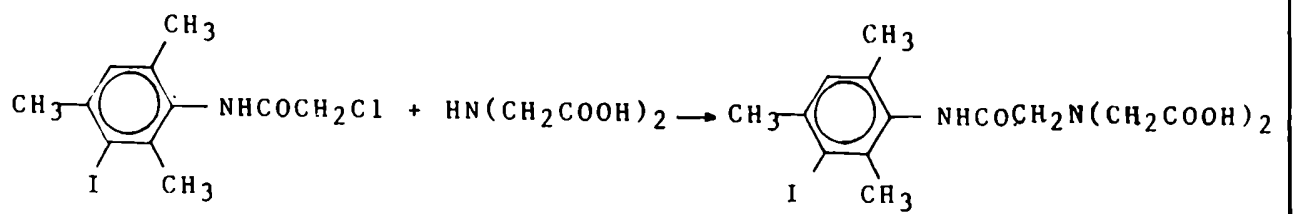
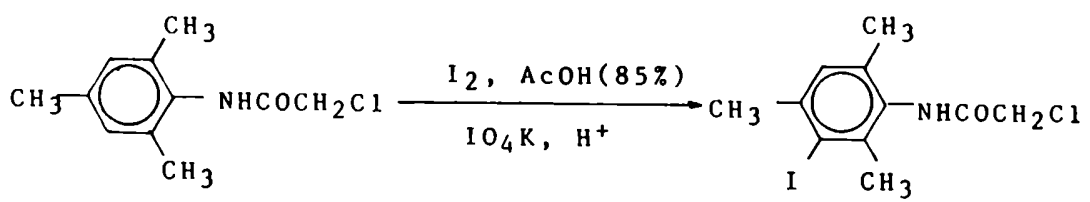
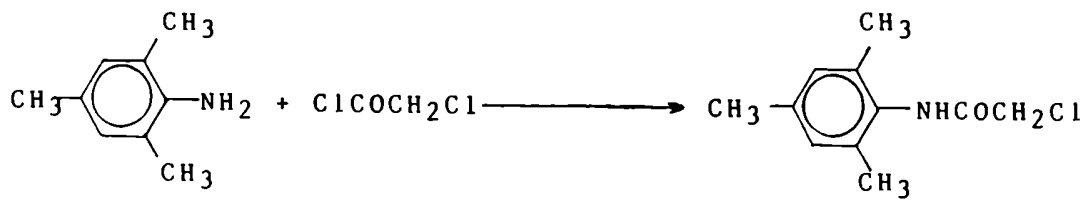


Figura 17. ESQUEMA DE SINTESIS DEL IODOFENIN

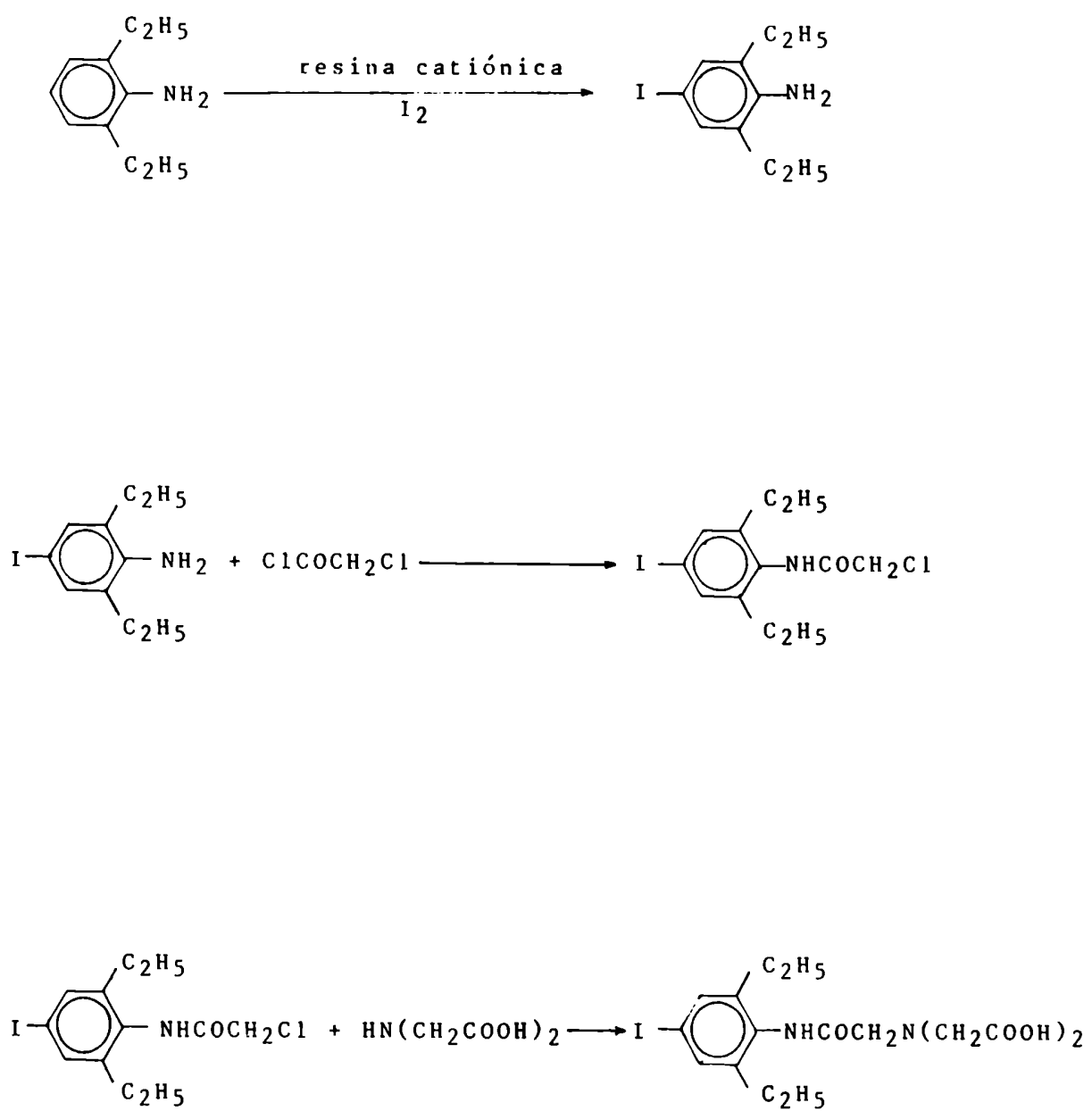


Figura 18. ESQUEMA DE LA SINTESIS DEL IODO-DIETIL-IDA

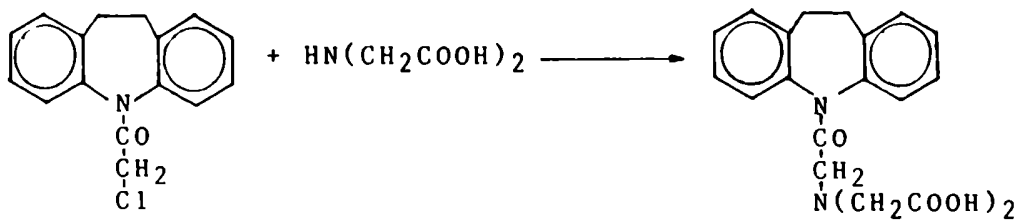
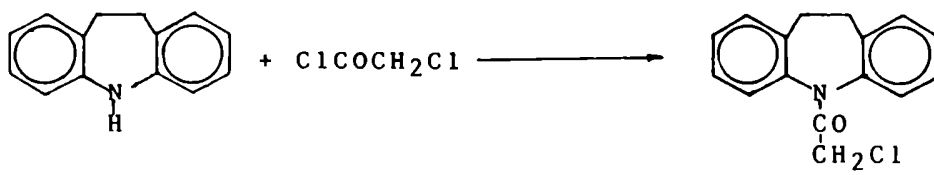


Figura 19. ESQUEMA DE SINTESIS DEL HIDA-10

#### 4. FORMACION DEL COMPLEJO N-DERIVADO DEL ACIDO IMINODIACE- TICO - Tc-99m

##### 4.1. Agente reductor

El agente reductor elegido fue el cloruro estannoso dihidratado ( $\text{Cl}_2\text{Sn}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), utilizándose una solución conteniendo 1,0 mg/ml de dicha droga. Esta solución se preparó de la siguiente manera: se pesaron, al miligramo, 10,0 mg del reductor y se colocaron en un vial; éste se cerró herméticamente y se desalojó el oxígeno presente mediante el burbujeo de nitrógeno gaseoso durante 5 minutos, a una presión del gas de 1 kg/cm<sup>2</sup>.

Se disolvió, luego, agregando 1 ml de solución desoxigenada de HCl 1,0 N, agitando vigorosamente durante algunos segundos. Se completó a un volumen de 10 ml con agua bidestilada desoxigenada.

##### 4.1.1. Control del poder reductor

Se realizó por yodimetría, utilizando una solución valorada de iodo y almidón como indicador. Se tomó como punto final de la valoración la persistencia del color azul durante 20 segundos.

##### 4.2. Pertecneciato de sodio (Tc-99m)

Se obtuvo de un generador de radiactividad "Gentec" (Mo-99/Tc-99m), producido por la Comisión Nacional de Energía Atómica (Figura 20). De este generador se obtiene una solución de pertecneciato de sodio ( $\text{TcO}_4\text{Na}$ -Tc-99m), de alta concentración de actividad. El "Gentec" consiste en una columna cromatográfica de vidrio rellena de alúmina, soporte, sobre el cual se ha depositado el Mo-99, el cual decae a Tc-99m. Este último se eluye de la columna mediante solución fisiológica levemente oxidante (Figura 21).

La elución del generador se llevó a cabo siguiendo las normas de seguridad radiológica, por lo cual el eluido se recogió en frascos evacuados protegidos por un blindaje de plomo provisto de un visor plomado que permite visualizar el volumen eluido.

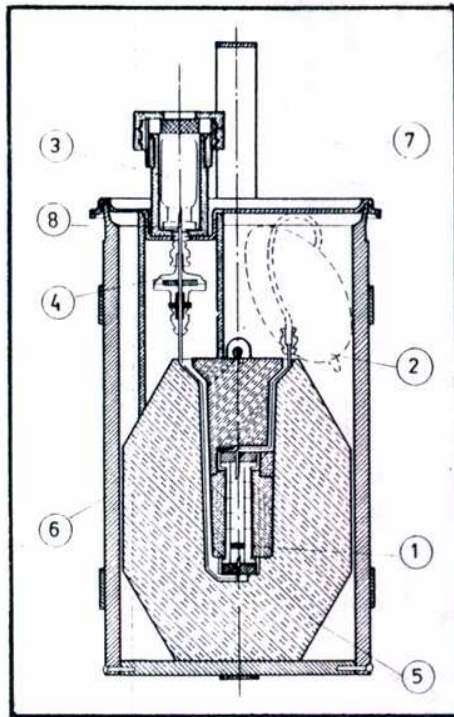
##### 4.2.1. Control de la elución

4.2.1.1. Determinación de Mo-99: se realiza mediante atenuación gamma en un calibrador de dosis, basándose en la diferencia de energías entre el Mo-99 (739,7 keV) y el Tc-99m (140 keV). De esta manera utilizando un blindaje de plomo adecuado, 6 mm de espesor, se registra parte de la radiación del Mo-99, mientras que la del Tc-99m es frenada totalmente. Se toma una muestra de referencia de Mo-99, con idéntica geometría que la muestra proveniente del generador, y se mide la actividad con y sin blindaje. El cociente entre estas dos mediciones es el factor de atenuación del Mo-99. Luego se mide la elución con el blindaje y este valor de actividad se divide por el factor de atenuación, obteniéndose la activi-





Figura 20. GENERADOR "GENTEC"



1. Columna cromatográfica de vidrio provista de almina como soporte, sobre la que se ha sembrado Mo-99 de fisión.
2. Sachet de material sintético que contiene la solución fisiológica para eluir.
3. Frasco colector.
4. Filtro de papel coloidal de  $0,22\mu$  de poro.
5. Blindaje de plomo.
6. Caja exterior.
7. Manija para el transporte.

Figura 2!. CORTE DE UN GENERADOR "GENTEC"

dad total del Mo-99.

$$F_a = \frac{\text{Actividad con blindaje}}{\text{Actividad sin blindaje}}$$

$$\text{Actividad de Mo-99} = \frac{\text{Actividad total con blindaje}}{\text{Factor de atenuación}}$$

La actividad de Mo-99 fue expresada como  $\mu\text{Ci Mo-99/mCi Tc-99m}$ .

4.2.1.2. Determinación de ión aluminio: se realiza mediante la formación de una laca con alizarina-S. A una gota de e - luído se le agrega una gota de NaOH 1 N y una gota de solu - ción de alizarina-S al 0,1%. El color violeta del coloran - te desaparece al agregar solución de ácido acético 1N, la coloración rosada de la laca aluminio-alizarina es propor - cional a la cantidad de aluminio presente, la cual se deter - mina por comparación con soluciones estándares de  $\text{Al}^{3+}$  y el resultado se expresa como ppm de  $\text{Al}^{3+}$ .

#### 4.3. Marcación

Para cada uno de los derivados se siguió el mismo pro - cedimiento de marcación, para ello, se pesaron 20 mg del N - derivado en un recipiente con tapa hermética, se desalojó el aire por burbujeo de nitrógeno gaseoso y se agregaron 0,4 ml de solución de NaOH 0,25 N, desoxigenada, agitando hasta disolución. Luego se agregaron 0,4 ml de agua destilada de - soxigenada. A esta solución se le agregaron 0,2 ml de la so - lución del agente reductor y se siguió burbujeando nitróge - no durante 2 minutos. El pH resultante fue de 5,5 a 6,0. Se agregó, luego, 1 ml de pertecneciato de sodio-Tc-99m, con una actividad de 20 mCi/ml.

El radiofármaco así preparado se esterilizó por pasaje a través de membrana filtrante de 0,22  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro.

#### 4.4. Determinación de la pureza radioquímica del complejo

El primer problema que se plantea después de la marca - ción de una molécula o compuesto es establecer su pureza ra - dioquímica, o sea el porcentaje de radiactividad que se ha - lla en la forma química deseada. En el caso de los deriva - dos del ácido iminodiacético marcados con Tc-99m las impure - zas más comunes o mejor caracterizadas son el  $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$  y las formas químicas del tecnecio reducido no unido al compuesto, hidrolizado, que generalmente se presentan bajo la forma co - loidal, y por ello, generalizando, denominamos coloide.

En general, la pureza radioquímica se establece por mé - todos cromatográficos, aunque son usadas también técnicas e - lectroforéticas y de filtración en gel.

Tradicionalmente la determinación de la pureza radioquí - mica de estos compuestos se realizaba utilizando como sol -

ventes la solución fisiológica y la metilcetona (MEC), como soporte se usaba papel Whatman o fibra de vidrio o ITLC-SG. Estos sistemas supuestamente servían para determinar la presencia de  $TcO_4^-$  (MEC) y coloide (e hidrolizado) (solución fisiológica). Sin embargo, encontramos que no siempre estas cromatografías daban resultados concordantes con la biodistribución del compuesto. Es así que se buscaron nuevos solventes tratandode encontrar sistemas cromatográficos rápidos y seguros. Se ensayaron distintas concentraciones de NaCl, ya que la cromatografía con solución fisiológica daba poca resolución y corridas sucias. Aumentando la concentración de NaCl se aumentó la fuerza iónica de la solución tratando de conseguir con una única cromatografía la separación de las tres especies químicas (compuesto, pertecneciato y coloide). Además se empleó metanol 85% buscando un solvente de menor polaridad que el agua, en el que los distintos compuestos migraran con el frente, dando un pico neto, con el fin de detectar la presencia de coloide. Por último se analizaron mezclas de MEC con distintos solventes orgánicos, puesto que habíamos observado que la cromatografía con MEC producía la descomposición del compuesto. Finalmente se llegó a la mezcla MEC-tolueno en la relación 1-1,5 que utilizamos para detectar la presencia de  $^{99m}TcO_4^-$ .

En todos los casos se utilizó el ITLC-SG (fibra de vidrio impregnada en sílica gel) como soporte, ya que tiene la ventaja de ser un material en el que se consiguen corridas sumamente rápidas (10 cm en 5 minutos).

Se utilizaron tiras de ITLC-SG de 1,5 cm de ancho por 10 cm de largo. La siembra se realizó con unamicrojeringa Hamilton, depositándose una gota (10  $\mu$ l) a 1,0 cm de uno de los extremos.

Las tiras se colocaron en cubas cromatográficas de vidrio, cilíndricas de 8,0 cm de diámetro y 12,0 cm de altura, que habían sido saturadas previamente con el solvente correspondiente. Una vez desarrollado el cromatograma las tiras se leyeron en un radiocromatógrafo Berthold a una velocidad de 3000 mm/h. Se calculó en cada caso el porcentaje de pureza radioquímica, expresado como:

$$\% \text{ P.R.} = \frac{\text{área bajo el pico del compuesto}}{\text{área bajo todos los picos}} \times 100$$

## 5. DETERMINACION DE LA DOSIS A ADMINISTRAR

Consiste en determinar la masa del radiofármaco que se puede administrar a un ser humano sin que haya posibilidad de reacciones adversas. Para ello se calculó primero la DL-50, o sea la cantidad del compuesto en estudio que mata al 50% de una población animal en estudio. Luego se determina un factor de seguridad, que es la relación entre la DL-50 y la dosis máxima a administrar en un ser humano; este factor, en general, ya está definido de antemano según el uso del radiofármaco en cuestión.

### 5.1. Elección del modelo experimental

Se utilizaron ratones NIH, endocriados, provenientes del bioterio de la Comisión Nacional de Energía Atómica, Centro Atómico Ezeiza. Se trabajó con igual cantidad de machos y hembras, con un peso comprendido entre 28 y 30 g.

#### 5.1.1. Condiciones de trabajo

Se tomaron diez grupos de diez animales cada uno con igual cantidad de machos y hembras. Se rotularon y se mantuvieron en jaulas con alimento balanceado de fórmula abierta y agua, durante 48 horas. Veinticuatro horas antes de comenzar el estudio se les retiró el alimento y se les dió a beber solución glucosada al 5%.

Para la administración del complejo los animales fueron colocados en un brete adecuado y se les dilataron las venas de la cola mediante acción calórica y se les inyectó 0,1 ml de las soluciones en estudio mediante una jeringa tipo tuberculina con aguja de 26 G x  $\frac{1}{2}$ .

Las soluciones administradas contenían distintas concentraciones del agente quelante, la cantidad correspondiente de reductor y Tc-99 proveniente de una solución decaída de  $^{99m}\text{TcO}_4\text{Na}$ .

Luego de la administración los animales fueron pesados y colocados nuevamente en las jaulas para su observación.

El control de los animales fue realizado de la siguiente manera:

Control físico antes de comenzar el estudio.

Evaluación diaria de la presencia de señales de toxicidad, tales como vómitos, movimientos anormales, apetito, defecación, etc.

Control del peso corporal inmediatamente después de la administración del complejo y en el día en que se da por terminado el estudio o el animal muere.

Control del porcentajes de mortandad en cada uno de los lotes:

- en el momento del sacrificio.
- 10 minutos post administración
- 60 minutos post administración
- 90 minutos post administración

- 360 minutos post administración
- 24 horas post administración
- 48 horas post administración.

Los ratones sobrevivientes se sacrificaron a las 48 horas post administración y se los disecó para observar la posibilidad de anomalías en los distintos órganos. En el caso de animales moribundos o que murieron durante el curso del estudio fueron disecados y sus órganos conservados en solución de formol al 10% para su estudio patológico.

#### 5.1.2. Análisis de los resultados

Para estimar el valor de la DL-50 se graficaron los resultados en papel semilogarítmico, adjudicándoles a los distintos porcentajes de mortandad un valor probabilístico (Tabla 1). Cada uno de estos valores, probit, se graficó en función de la masa del complejo administrada por kilogramo de peso corporal.

El error de la DL-50 se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{error de la DL-50} = \frac{2S}{2r}$$

siendo:

2S el valor entre dos puntos que posean una diferencia de dos probit.

r es el número total de animales que se espera que sufran el efecto tóxico de la droga entre la escala probit 3,5 y 6,5.

La dosis máxima a administrar en un ser humano (DMH) se consideró que es el contenido completo de un vial (20 mg) y con esto se calculó el factor de seguridad (FS) que es el cociente entre la DL-50 y la DMH.

## 6. TOXICIDAD AGUDA

Debido a la posibilidad de variaciones de las cantidades de las drogas utilizadas en la preparación del radiofármaco o la introducción accidental de sustancias que pueden producir efectos tóxicos cuando es administrado al paciente es que se realiza el ensayo de toxicidad aguda.

### 6.1. Elección del modelo experimental

Se utilizaron ratones, cepa NIH, endocriados y provenientes del bioterio de la Comisión Nacional de Energía Atómica, Centro Atómico Ezeiza. Se trabajó con animales de ambos sexos, con pesos entre 28 y 30 g.

#### 6.1.1. Condiciones de trabajo

Se utilizaron lotes de cinco animales cada uno. Los animales se colocaron en un brete adecuado y se dilataron las venas de la cola por acción calórica y se les administró 0,1

% de muerte	Probabilidad	%de muerte	Probabilidad
1,0	2,674	80,0	5,842
5,0	3,355	81,0	5,878
10,0	3,718	82,0	5,915
15,0	3,964	83,0	5,954
20,0	4,158	84,0	5,994
25,0	4,326	85,0	6,036
30,0	4,476	86,0	6,080
34,0	4,588	87,0	6,126
36,0	4,642	88,0	6,175
38,0	4,694	89,0	6,226
40,0	4,747	90,0	6,282
42,0	4,798	91,0	6,341
44,0	4,849	92,0	6,405
46,0	4,900	93,0	6,476
48,0	4,950	94,0	6,555
50,0	5,000	95,0	6,645
52,0	5,050	96,0	6,751
54,0	5,100	97,0	6,881
56,0	5,151	98,0	7,054
58,0	5,202	98,5	7,170
60,0	5,252	99,0	7,236
62,0	5,306	99,1	7,366
64,0	5,358	99,2	7,409
66,0	5,412	99,3	7,457
68,0	5,468	99,4	7,512
70,0	5,524	99,5	7,576
72,0	5,583	99,6	7,652
74,0	5,643	99,7	7,748
76,0	5,706	99,8	7,878
78,0	5,772	99,9	8,090

TABLA 1. VALORES PROBIT

ml del complejo en estudio, utilizando una jeringa tipo tuberculina con aguja de 26 G x  $\frac{1}{2}$ .

Después de la administración los animales fueron colocados en jaulas bien ventiladas y se los controló durante seis horas. Se consideró resultado negativo, o ausencia de toxicidad cuando ningún animal murió en ese lapso de tiempo. Si por el contrario moría algún animal antes de finalizado el ensayo se repetía con un lote de diez animales, los que se dejaban en observación, no debiendo morir ninguno para considerar el ensayo negativo.

## 7. ESTUDIOS FARMACOLOGICOS

### 7.1. Esterilidad

Este ensayo tiene como finalidad la determinación de contaminantes microbianos. La técnica utilizada fue la de la Farmacopea Argentina (6° Edición).

Para la siembra en los distintos medios de cultivo se utilizó una cámara estéril de 80 cm de largo, 60 cm de ancho y 80 cm de altura, manejándose las muestras a través de guantes adosados a una de las paredes. La cámara fue esterilizada diariamente por acción de luz ultravioleta.

Los medios de cultivo utilizados fueron los siguientes:  
Caldo simple o nutritivo para la determinación de organismos aeróbicos.

Caldo con tioglicolato para la determinación de organismos anaeróbicos.

. Caldo de Sabouraud para la determinación de hongos.

Estos medios fueron colocados en tubos de vidrio a razón de 5 ml en cada uno y fueron esterilizados en autoclave.

En cada medio se sembraron 0,3 ml del radiofármaco en estudio. La temperatura de incubación fue de 35-37°C para el medio nutritivo y el de tioglicolato y de 22-25 °C para el de Sabouraud. Se realizó control visual de todos los tubos diariamente hasta los 7 días.

### 7.2. Sustancias piretógenas

Este ensayo tiene como objeto la determinación de la presencia de sustancias que, al ser administradas en un animal homeotermo, provocan variaciones en su temperatura basal.

Para ello también se recurrió a la Farmacopea Nacional Argentina, que recomienda el uso de conejos para la determinación de sustancias piretógenas. Se utilizaron conejos, adultos de 3,5 a 4,5 kg de peso. Estos animales fueron dejados en ayunas 24 horas y sin modificar su entorno se los colocó en el brete de trabajo en el cual permanecieron 4 horas para normalizar su temperatura basal. Se utilizaron sólo los animales cuya temperatura no varió en más de 1°C en este lapso, siempre que su temperatura no fuera superior a 39,8°C o inferior a 38,9°C. Para cada ensayo se utilizaron tres cone



jos, a los que se les administró el radiofármaco por la vena marginal de una oreja. Los controles de temperatura se hicieron a los 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos post administración.

Para evaluar los resultados se siguió el siguiente criterio:

Si en dos conejos, por lo menos, se han registrado elevaciones térmicas de  $0,6^{\circ}\text{C}$ , o más sobre su temperatura normal, el ensayo será positivo; es decir, existen sustancias piretógenas.

Si se ha registrado elevación térmica de  $0,6^{\circ}\text{C}$  o más en un sólo conejo, o si la suma de las elevaciones térmicas de los tres conejos es mayor de  $1,4^{\circ}\text{C}$ , el ensayo será dudoso. En este último caso se practica un nuevo ensayo con un lote de cinco conejos. Si en dos conejos, por lo menos, de este nuevo ensayo se han registrado elevaciones térmicas de  $0,6^{\circ}\text{C}$  o más sobre su temperatura normal, el ensayo será positivo.

## 8. CINETICA PLASMATICA

Los radiofármacos son eliminados del cuerpo por metabolización y/o excreción. La metabolización es el cambio en la estructura química de la droga con modificación o pérdida de la actividad farmacológica. La excreción es la salida en forma intacta a través de los riñones, sistema biliar, intestino, pulmón, etc. La eliminación se cuantifica a través de la llamada vida media plasmática o biológica o sencillamente "vida media", que es el tiempo necesario para disminuir a la mitad la cantidad de una droga en el organismo. Una de las formas de estudiarla es definir la cinética plasmática, o sea estudiar la concentración de la droga en estudio en la sangre a través del tiempo.

### 8.1. Modelo biológico utilizado

Se utilizaron ratas Wistar de 250 a 300 g de peso, a las que se aplicó la técnica de derivación carotídeo-carotídeana propuesta por Cohen y col.

Para ello se anestesió el animal, previa determinación de su peso, con una dosis intraperitoneal de uretano equivalente a 1g/kg de peso del animal; el animal se colocó en posición decubito dorsal sobre la camilla de contención, sujetándolo por las cuatro extremidades y los dientes incisivos superiores.

Se colocó el animal con la cabeza hacia el operador y se efectuó un pequeño corte, con bisturí, para dejar al descubierto la vena yugular externa derecha, separando luego las masas musculares, exponiendo la vena hasta el seno venoso, se disulsionó la vena a fin de eliminarle la adventicia y se pasaron por debajo de ella dos hilos de cirugía de 10 cm de longitud, anudando el del lado cefálico y preparando un me-

dio nudo con el otro (Figura 22).

Se efectuó un pequeño corte en bisel en la vena yugular de forma tal de introducir una cánula plástica con mandril, a través de la cual se hicieron las administraciones del radiofármaco y solución fisiológica. Se anudó el otro hilo sujetando así firmemente la cánula y para mayor seguridad ésta se fijó a la piel del animal mediante un hilo quirúrgico.

A través de esta cánula se administraron 5000 U.I. de heparina por kilogramo de peso del animal.

Se invirtió la orientación del animal colocando el extremo caudal hacia el operador; en esa posición se practicó un corte central en la piel y tejido subcutáneo, desde la base de la mandíbula hasta el nacimiento del esternón. Con la ayuda de separadores se buscó la arteria carótida primitiva izquierda, separando las membranas que cubren los músculos; se apartó la arteria de los filetes nerviosos que la acompañan y se pasaron por debajo de ella tres hilos quirúrgicos, preparando dos medios nudos, uno hacia la región cefálica y otro hacia la abdominal y cerrando el tercero con un doble nudo en el centro de la porción de la arteria separada (Figura 23 y 24).

Se pinzó la arteria por detrás del seminudo cefálico, realizando a continuación un corte en bisel a través del cual se introdujo un cateter de 0,7 mm de diámetro interno y aproximadamente 1 metro de longitud, conteniendo una solución 1:1 (v/v) de heparina de 5000 U.I./ml en solución fisiológica. En su parte media estaba arrollado a un tubo de vidrio de 1 cm de diámetro, con 5 vueltas.

El medio nudo ya preparado se ajustó sujetando el cateter y a continuación se quitó la pinza. Se volvió a colocar el animal con el extremo cefálico hacia el operador y se pinzó la arteria del lado abdominal. Se practicó un nuevo corte en bisel y se introdujo el extremo libre del cateter, anudando el medio nudo y quitando luego la pinza; la sangre debía fluir a través del cateter en un tiempo no mayor de 30 segundos. Si ese tiempo era mayor el animal era descartado. La operación completa insumía un tiempo no mayor de 20 minutos, sin que el animal sufriera una alteración significativa de su volemia u otros parámetros fisiológicos (Figura 25 y 26).

Una vez practicada la operación el animal fue colocado próximo al sistema de detección (Figura 27) y el tubo con el cateter arrollado fue puesto en el pozo del cristal de centelleo conectado a un espectrómetro gamma monocanal, con integrador y registrador (Figura 28).

A través de la cánula conectada a la yugular se administraron  $50 \mu\text{Ci}$  (0,3 ml) del radiofármaco en estudio, seguidos de 0,5 ml de solución fisiológica, con el objeto de que no quedara el material radiactivo retenido en la cánula. Simultáneamente se comenzó el registro de la actividad, el que se continuó hasta los 120 minutos (Figura 29).

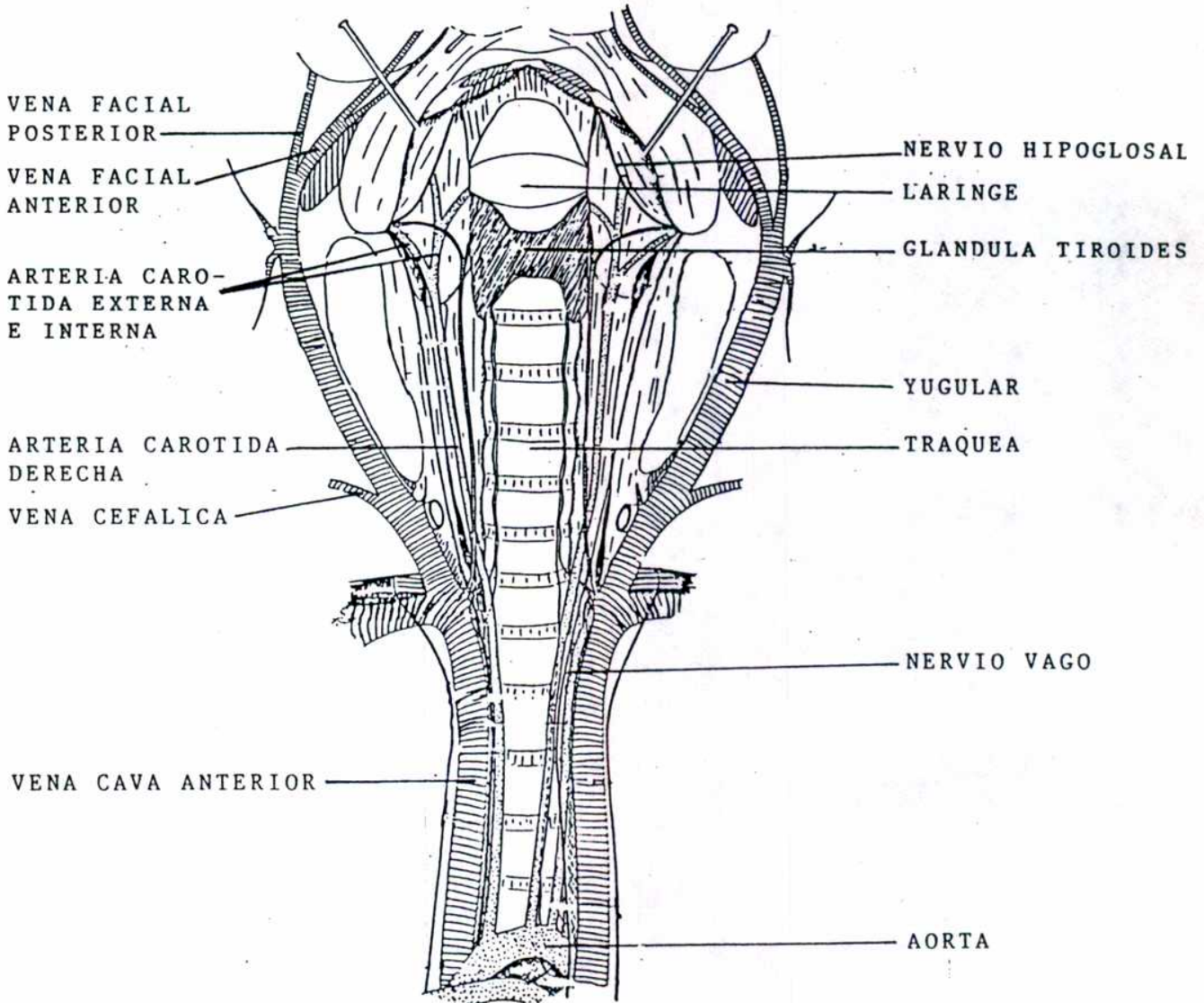


Figura 22. Detalles de la anatomía del área en la que se realiza la circulación extracorpórea.

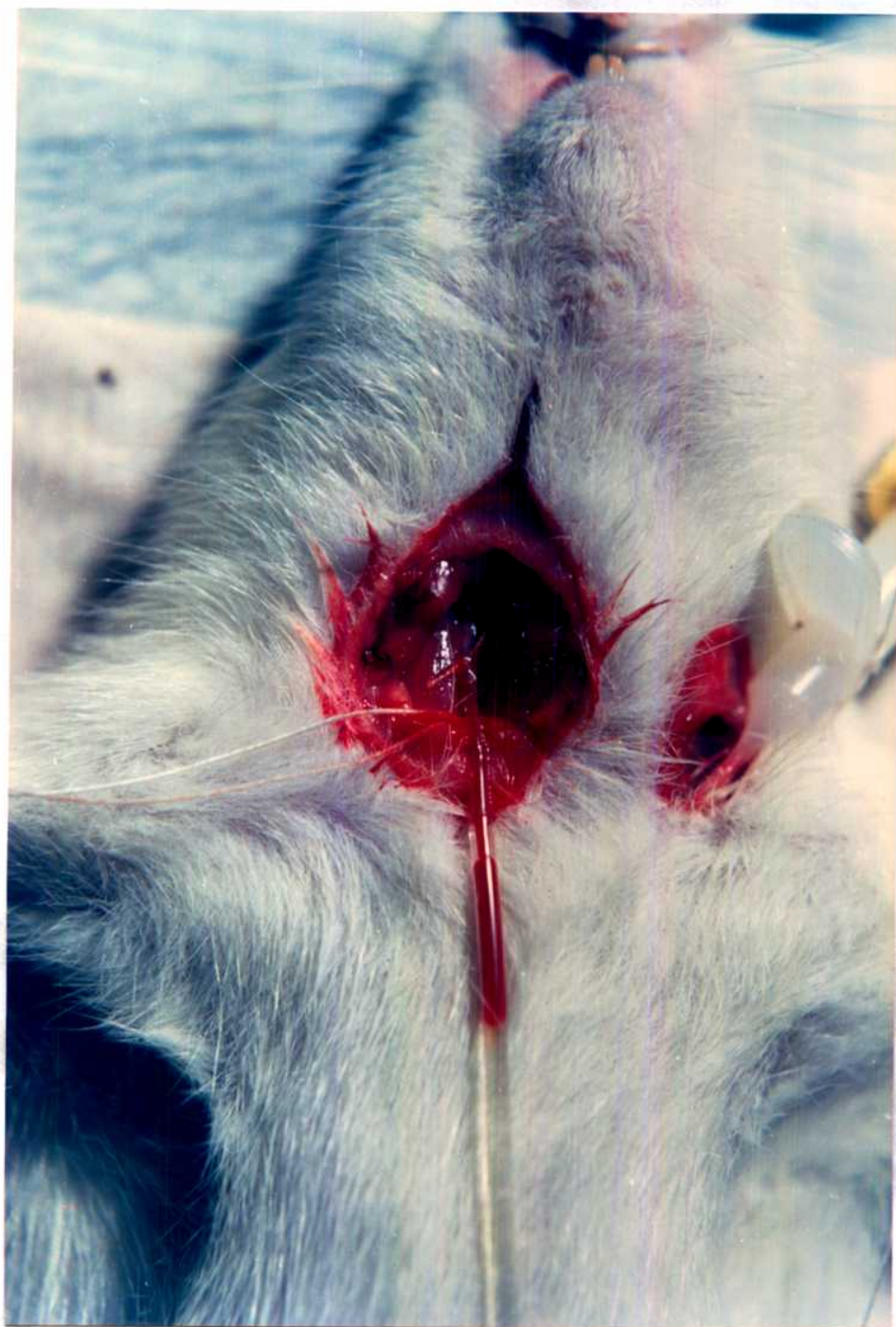


Figura 23. Detalle de la canalización





Figura 24. Detalle de la fijación de la cánula



Figura 25. Area preparada para la circulación extracorpórea

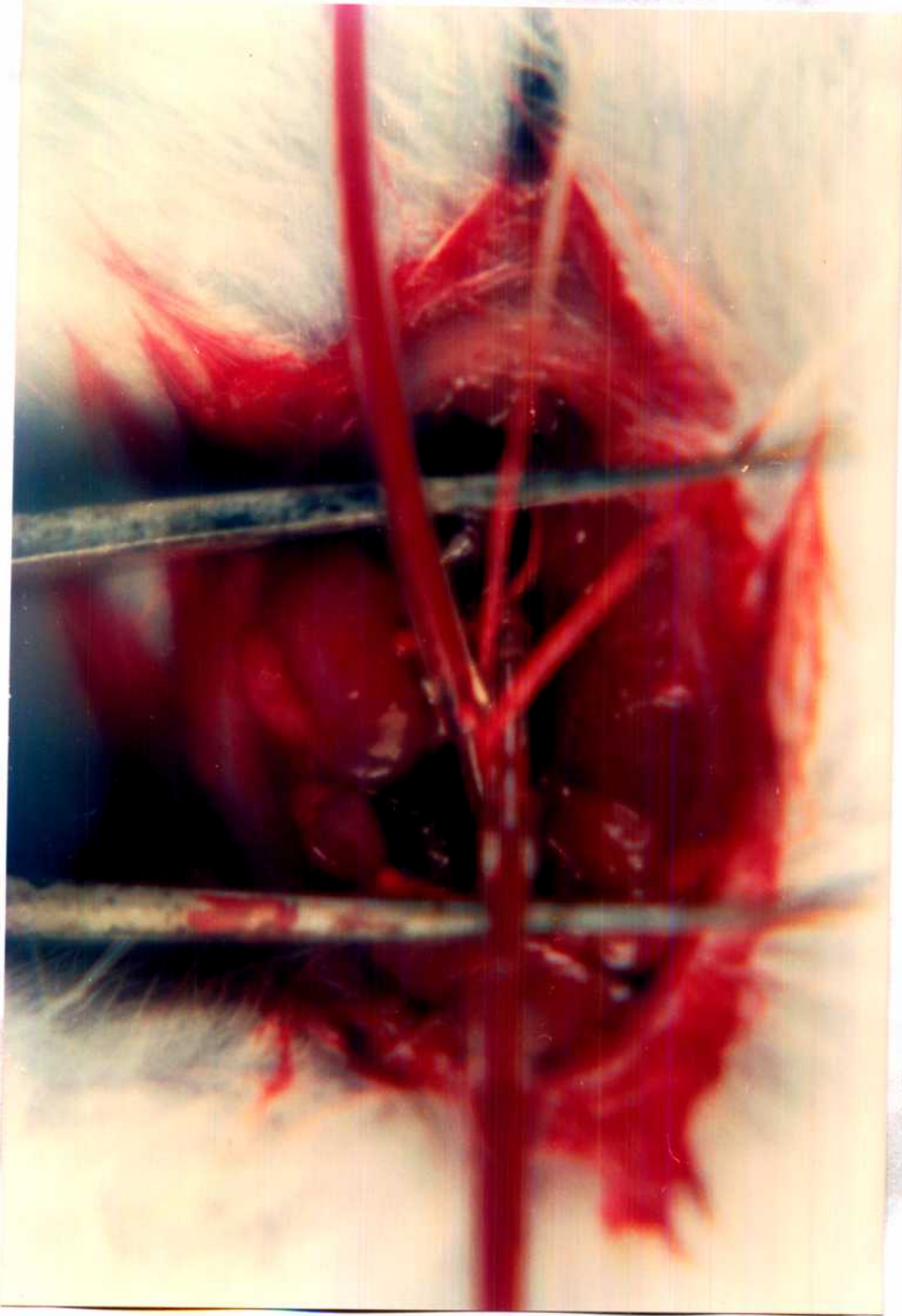


Figura 26. Detalle de la arteria carótida canalizada





Figura 27. Vista del animal listo para la administración del radiofármaco





Figura 28. Sistema de detección y registro

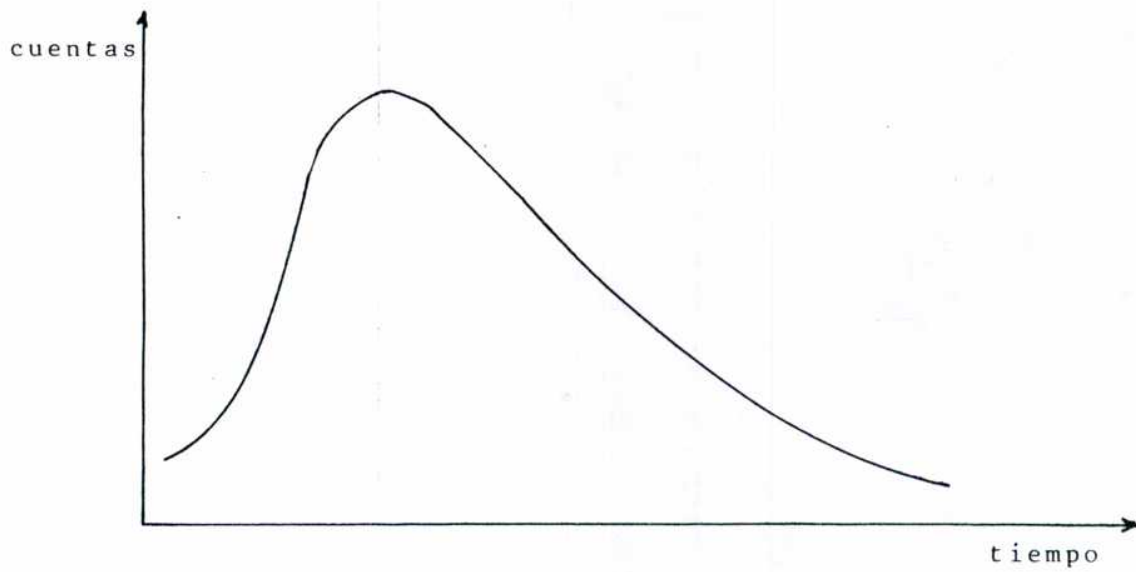
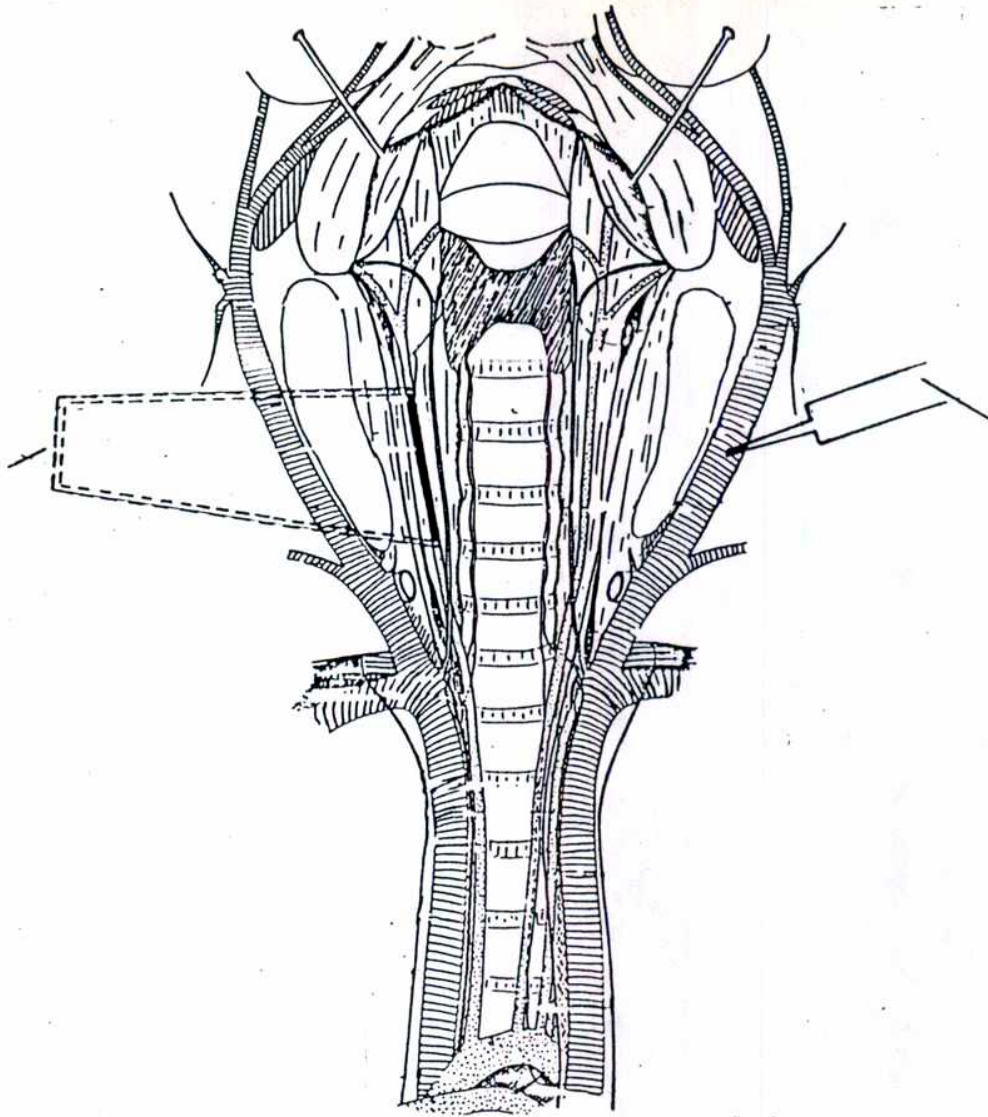


Figura 29. a) Detalles del área involucrada en la derivación extracorpórea. b) Gráfico tipo que se obtiene del registrador

## 8.2. Análisis de las componentes

Los resultados obtenidos experimentalmente fueron volcados a un archivo programado en "basic" de donde fueron extraídos y procesados mediante un programa. Dicho programa ejecuta una aproximación de los datos con una curva exponencial de "n" términos, siendo "n" el número de compartimientos intervinientes en el ciclo de circulación del radiofármaco en estudio. La ecuación tiene la forma:

$$\text{Concentraci3n} = \sum_{i=1}^n C_i e^{-\lambda_i t}$$

siendo  $C_i$  y  $\lambda_i$  n constantes.

El algoritmo usado para el cálculo de los coeficientes es el siguiente:

Sea una muestra de P pares de datos (tiempo-concentración),  
siendo           x: tiempo  
                  y: concentración

1. Cálculo del primer término

$$-\lambda_1 = \frac{\overline{xy \ln y} - \bar{x} \overline{\ln y}}{\overline{x^2} - \bar{x}^2}$$

$$C_{1.} = e^{-\overline{\ln y}} - (-\lambda_1) \bar{x}$$

Las medias se evalúan con los datos de los pares 1 a  $i_1$ ,  
siendo  $i_1 < P$ .

2. Con la tabla de datos se calcula:

$$y_i^* = y_i - C_{1.} e^{-\lambda_1 x_i}$$

siendo:

$y_i^*$    nuevo valor

$y_i$     valor anterior

El cálculo se realiza para todos los pares, desde  $J = i_1 + 1$  a P.

3. Se calcula el próximo término igual que en 1, pero con las medias calculadas en 2 y para los pares  $i_1 + 1$  a  $i_2$ , o sea  $i_{m-1} + 1$  a  $i_m$ .

4. Con la tabla de valores se calcula:

$$y^* = y - \sum_{j=1}^m C_j e^{-\lambda_j x}$$

siendo "m" el último término calculado.

5. Se vuelve al paso 2 hasta calcular el término "n".

Para  $n=2$ , como es el caso considerado, el programa tiene la posibilidad de efectuar un cálculo automático, buscando el par intermedio  $i$  ( $1 < i < P$ ) para el cual el error entre la

curva aproximada y la muestra real es uno de los menores posibles.

El listado completo del programa se presenta en la Tabla 2. Con este programa se ajustaron las curvas obtenidas experimentalmente y se realizó el cálculo del  $T_{\frac{1}{2}}$  corto y  $T_{\frac{1}{2}}$  largo, por descomposición de la curva en dos rectas; estos tiempos dan idea de la captación hepática y de la excreción renal.

```
20 KEY OFF
30 ON ERROR GOTO 3780
40 DEFDBL M,V,T,Y,X,L,H,P,R,Q
50 CLS
60 *****
70  seleccionar columnas
80 GOSUB 2700
90 BEEP:CLS
95 ON ERROR GOTO 3780
100 *****
110  modo de ingr.de datos
120 GOSUB 2920
130 *****
140  selecciono imprecision tabla
145 GOTO 10000
150 CLS:BEEP:BEEP:PRINT RS$;"COLOQUE CORRECTAMENTE EL PAPEL"
160 PRINT :PRINT RS$;"EN LA IMPRESORA....."
170 BEEP:PRINT:PRINT RS$;"LUEGO PRESIONE <<RETURN>>":W$=INPUT$(1)
180 LPRINT "          TABLA DE VALORES"
190 END?
200 LPRINT "
210 LPRINT " ":LPRINT " ":LPRINT " NRO.DE PAR      TIEMPO      CONCENTRACION"
220 LPRINT " ---          -----          -":LPRINT " "
230 FOR I=1 TO NR
240 LPRINT USING "      #####          #####          #####.###";I,M(I,1),M(I,2)
250 NHO=NHO+1
260 IF NHO<55 THEN GOTO
270 FOR J=1 TO 15
280 LPRINT " ":NEXT J
290 NHO=1
300 NEXT I
310 FOR J=1 TO (55-NHO+15)
320 LPRINT " ":NEXT J
330 *****
340  correccion de errores
350 GOTO 3420
360 *****
370  grabo archivo
380 IF NO$<>" " THEN GOTO 460
390 CLS:PRINT:PRINT RS$;"INGRESE NOMBRE PARA EL ARCH.INGRESADO"
400 PRINT:PRINT " (max. 6 caracteres)"
410 PRINT:INPUT J$
420 OPEN J$+".ASC" FOR INPUT AS #1
430 CLOSE #1:PRINT:PRINT RS$;"NOMBRE YA EXISTE":BEEP
440 FOR I=1 TO 400:NEXT I:GOTO 390
450 NO$=J$
460 OPEN NO$+".ASC" FOR OUTPUT AS #1
470 PRINT #1,NR;
480 FOR I=1 TO NR
490 PRINT #1,M(I,1);M(I,2);
500 NEXT I
510 CLOSE #1
520 *****
530  agrego datos
540 GOTO 3570
```

```
550 /*****  
560 calculo maximos  
570 GOSUB 3320  
580 /*****  
590 grafico nube de ptos.  
600 IF RS=2 THEN PX=190/HX:PY=155/HY  
610 IF RS=1 THEN PX=490/HX:PY=230/HY  
620 CLS  
630 SCREEN 2  
640 /COLOR 7  
650 IF RS=2 THEN LINE (50,5)-(50,170),7:LINE (50,170)-(240,170),7:DF=170  
660 IF RS=1 THEN LINE (50,5)-(50,250),7:LINE (50,250)-(630,250),7:DF=250  
670 FOR I=1 TO 1000:NEXT I  
680 FOR I=1 TO NR  
690 X=M(I,1)*PX+50  
700 Y=UF-M(I,2)*PY  
710 PSET(X,Y),7  
720 NEXT I  
730 /*****  
740 en 80 col. marco etala  
750 IF RS=1 THEN GOSUB 2820:GOTO 770  
760 IF INKEY$="" THEN GOTO 760  
770 SCREEN 0  
780 GOTO 1080  
790 #####  
800 lleno matriz  
810 /*****  
820 AX=M(I,1)  
830 AY=M(I,2)  
840 M(I,3)=AX^2  
850 M(I,4)=AY^2  
860 M(I,5)=AX*AY  
870 /M(I,6)=LOG(AX)  
880 M(I,7)=LOG(AY)  
890 M(I,8)=AX*LOG(AY)  
900 /M(I,9)=LOG(AX)*LOG(AY)  
910 M(I,10)=(LOG(AY))^2  
920 /M(I,11)=(LOG(AX))^2  
930 RETURN  
940 /*****  
950 calculo vector  
960 /*****  
970 FOR I=I1 TO I2  
980 GOSUB 790  
990 NEXT I  
1000 FOR I=1 TO 13  
1010 V(I)=0  
1020 FOR J=11 TO 12  
1030 V(I)=V(I)+M(J,I)  
1040 NEXT J  
1050 V(I)=V(I)/(12-11+1)  
1060 NEXT I  
1070 RETURN  
1080 /*****  
1090 EXPONENCIAL
```

```
1100 *****
1101 CLS:PRINT:PRINT:PRINT RS$:"1- CARGA OTRA MUESTRA"
1102 PRINT:PRINT RS$:"2- CONTINUA"
1103 PRINT:PRINT "Ingrese opcion ==>";O$=INPUT$(1):O=VAL(O$)
1104 ON O GOTO 1106,1110
1105 GOTO 1101
1106 ERASE H:ERASE V:NO$="":GOTO 90
1110 ON ERROR GOTO 3780
1120 FL=1
1130 FOR I=1 TO 100:NEXT I
1140 CLS:PRINT:PRINT RS$:"CALCULO DE ECUACION"
1150 PRINT RS$:"====="
1160 PRINT:PRINT RS$,:INPUT "de cuantos terminos ";TE$:TE=VAL(TE$)
1170 DIM VE(TE,5):DIM QU(2):QU(1)=999999!
1180 ON ERROR GOTO 0
1190 CLS:PRINT "LA MUESTRA ESTA FORMADA POR";NR;" PARES"
1200 PRINT "INGRESE A PARTIR DE QUE PAR CALCULA COEF.(",TE;")":PRINT:PRINT "
ngrese <<0>> para cal.automatico,":PRINT " si cant.terminos = 2)":PRINT:INPUT
==>";IN
1210 *****
1220 calc.ultimo coeficiente
1230 IF TE<>2 AND IN=0 THEN GOTO 1180
1240 IF TE<>2 THEN GOTO 1280
1250 IF IN=0 THEN FL=0:IN=INT(NR-NR/12)
1260 IF FL=0 AND IN<4 THEN GOTO 3830
1270 IF FL=0 THEN IN=IN-INT(NR/15)
1280 I1=IN:I2=NR:VE(TE,4)=IN:VE(TE,5)=NR:GOSUB 940
1290 B=(V(8)-V(1)*V(7))/(V(3)-V(1)^2)
1300 VE(TE,2)=-B
1310 A=V(7)-B*V(1)
1320 B=EXP(B)
1330 A=EXP(A)
1340 VE(TE,1)=A
1350 VE(TE,3)=B
1360 *****
1370 calc.los otros coefs.
1380 GOSUB 2310
1390 *****
1400 calc.vector
1410 I1=1:I2=NR
1420 FOR I=I1 TO I2
1430 M(I,2)=M(I,14):NEXT I
1440 GOSUB 940
1450 FOR I=1 TO NR
1460 M(I,12)=0
1470 FOR J=1 TO TE
1480 M(I,12)=M(I,12)+VE(J,1)*VE(J,3)^M(I,1)
1490 NEXT J
1500 M(I,13)=(M(I,12)-M(I,2))^2
1510 IF I=1 THEN V(13)=0
1520 V(13)=M(I,13)+V(13)
1530 NEXT I
1540 V(13)=V(13)/NR
1550 PRINT SQR(V(13));IH:BEEP:BEEP
1560 IF FL<>0 THEN GOTO 1440
```

```
1570 IF SQR(V(13))>QU(1) THEN IN=QU(2):FL=2:GOTO 1590
1580 QU(1)=SQR(V(13)):QU(2)=1N
1590 FOR I=1 TO TE
1600 FOR J=1 TO 5
1610 VE(I,J)=0
1620 NEXT J:NEXT I
1630 IF FL=2 THEN GOTO 1280 ELSE GOTO 1260
1640 R0=(V(8)-V(1)*V(7))/(SQR(V(3)-V(1)^2)*SQR(V(10)-V(7)^2))
1650 R1=R0^2
1660 R2=1-V(13)/(V(4)-V(2)^2)
1670 CLS
1680 SCREEN 2
1690 IF RS=2 THEN LINE (50,5)-(50,170),7:LINE (50,170)-(240,170),7:DF=170
1700 IF RS=1 THEN LINE (50,5)-(50,250),7:LINE (50,250)-(630,250),7:DF=250
1710 IN=LX*PX+50
1720 FI=HX*PX+50
1730 FOR I=1N TO FI
1740 T=(I-50)/PX
1750 Y=DF
1760 FOR Z=1 TO TE
1770 Y=Y-(VE(Z,1)*EXP(-VE(Z,2)*T))*PY
1780 NEXT Z
1790 PSET(I,Y),3
1800 NEXT I
1810 FOR I=1 TO NR
1820 X=M(I,1)*PX+50
1830 Y=DF-M(I,2)*PY
1840 PSET(X,Y),7
1850 NEXT I
1860 IF RS=1 THEN GOSUB 2820:GOTO 1880
1870 IF INEYI="" THEN GOTO 1870
1880 SCREEN 0
1890 IF R0 < 1 THEN R0=1
1900 IF R1 < 1 THEN R1=1
1910 IF R2 < 1 THEN R2=1
1920 IF R0 < -1 THEN R0=-1
1930 IF R1 < -1 THEN R1=-1
1940 IF R2 < -1 THEN R2=-1
1950 CLS
1960 PRINT "DATOS : "
1970 PRINT "-----"
1980 PRINT:PRINT "R^2 =";R2
1990 PRINT:PRINT " FUNCION : Y=";VE(TE,1);"* E ^(-";VE(TE,2);"* t)
2000 FOR Z=1 TO (TE-1)
2010 PRINT "+" VE(Z,1);"* E ^(-";VE(Z,2);"* t)
2020 NEXT Z
2030 PRINT:PRINT "ERROR STANDARD=";SQR(V(13))
2040 FOR Z=1 TO TE
2050 PRINT:PRINT USING "t medio(##) ###.### minutos.";Z;(.693/VE(Z,2))
2060 NEXT Z
2070 IF FL<>2 THEN GOTO 2090
2080 PRINT:PRINT "El calculo automatico se hizo con los":PRINT:PRINT
I 1 -";QU(2);"I I";QU(2);"-";NR;"J"
2090 PRINT:PRINT "presione <<RETURN>> para continuar";:G#=INPUT$(1)
2095 G#=INPUT$(1)
```



```
2100 FOR I=1 TO 100:NEXT I
2110 *****
2120 INTERPOLACION
2130 *****
2140 CLS:PRINT:PRINT RS$;"DESLA INTERPOLAR (576)";:JF=INPU$(1)
2150 IF JF="5" OR JF="S" THEN GOTO 2180
2160 CLS
2170 GOTO 3840
2180 FOR I=1 TO 100:NEXT I
2190 CLS:PRINT:PRINT RS$;:INPUT "INGRESE VALOR A INTERPOLAR";DK
2200 DL=0
2210 FOR Z=1 TO TE
2220 DL=DL+VE(Z,1)*VE(Z,3)^DL
2230 NEXT Z
2240 PRINT:PRINT RS$;"PARA ( ";:JF
2250 PRINT:PRINT RS$;"concentr=";:PRINT USING "###.###";DL
2260 PRINT:PRINT:PRINT:PRINT "presione <<RETURN>> para continuar";:JF=INPU$(1)
2270 FOR I=1 TO 100:NEXT I
2280 GOTO 2140
2290 *****
2300 calculo los demas coefs.
2310 CLS
2320 FOR Z=(1E-1) TO 1 STEP -1
2330 FOR I=1 TO NR
2340 M(1,2)=M(1,14):NEXT I
2350 FOR I=1 TO NR
2360 FOR J=1 TO TE
2370 M(1,2)=M(1,2)-VE(J,1)*EXP(-VE(J,2)*M(1,1))
2380 NEXT J:NEXT I
2390 IF FL<>1 THEN I1=1:I2=1N:GOTO 2440
2400 PRINT "INGRESE PAR INICIAL Y PAR FINAL PARA EL CALCULO DE COEF.(";2;")"
2410 PRINT:PRINT " uso para coef.(";Z+1;") (";VE(Z+1,4);"-";VE(Z+1,5);"1"
2420 PRINT:PRINT:INPUT " VALOR INICIAL ";I1:VE(Z,4)=I1
2430 PRINT:INPUT " VALOR FINAL ";I2:VE(Z,5)=I2
2440 GOSUB 940
2450 B=(V(8)-V(1)*V(7))/(V(3)-V(1)^2)
2460 VE(Z,2)=-B
2470 A=V(7)-B*V(1)
2480 B=EXP(B)
2490 A=EXP(A)
2500 VE(Z,1)=A
2510 VE(Z,3)=B
2520 NEXT Z
2530 GOTO 2570
2540 *****
2550 calculamos a1
2560 FOR I=1 TO NR
2570 M(1,2)=M(1,14)
2580 NEXT I
2590 VE(1,1)=M(1,2)-VE(3,1)-VE(2,1)
2600 AUX=(M(2,1)*M(I1,1))^.5
2610 B=(-LOG(M(AUX,2)-VE(2,1)*VE(2,3)^AUX-VE(3,1)*VE(3,3)^AUX)+LOG(VE(1,1)))/AUX
2620 VE(1,2)=B
2630 VE(1,3)=EXP(B)
2640 FOR I=1 TO NR
```

```

2650 M(I,2)=M(I,14)
2660 NEXT I
2670 FOR I=1 TO NR
2680 M(I,2)=M(I,14):NEXT I
2690 RETURN
2700 /*****
2710   seleccionar columnas
2720 CLS:PRINT:PRINT:PRINT:PRINT:PRINT "PANTALLA"
2730 PRINT "*****"
2740 PRINT:PRINT:PRINT "   1- 80 COLUMNAS"
2750 PRINT:PRINT "   2- 40 COLUMNAS"
2760 PRINT:PRINT "seleccione opcion ==>";:RS#=INPUT$(1):PRINT RS#
2770 FOR I=1 TO 70:NEXT I
2780 IF RS#<>"1" AND RS#<>"2" THEN GOTO 2700
2790 IF RS#="1" THEN RS=VAL (RS#):RS#=""           " :GOTO 2810
2800 RS=VAL (RS#):RS#=""
2810 RETURN
2820 /*****
2830   valores de los ejes
2840 FOR I=1 TO NR STEP INT(NR/3)
2850 FOR J=0 TO 9
2860 PSET (M(I,1)*PX+50,J+250):NEXT J:NEXT I
2865 FOR J=0 TO 9
2867 PSET (M(NR,1)*PX+50,J+250):NEXT J
2870 FOR J=40 TO 50
2880 PSET (J,DF-INT(HY/2)*PY):PSET (J,DF-INT(HY)*PY):NEXT J:SCREEN 0
2890 FOR I=1 TO NR STEP INT(NR/3):LOCATE 23,((M(I,1)*PX+30)/9):PRINT USING "###.#";M(I,1)
2895 LOCATE 23,((M(NR,1)*PX+10)/9):PRINT USING "###.#";M(NR,1)
2900 LOCATE (DF-(HY/2)*PY)/12+1,0:PRINT USING "###.#";INT (HY/2):LOCATE (DF-HY)
2910 G$:INPUT$(1):RETURN
2920 /*****
2930   selecc. modo de carga
2940 CLS:PRINT:PRINT:PRINT:PRINT:PRINT:PRINT:PRINT RS#;"CARGA DE DATOS"
2950 PRINT RS#;"*****"
2960 PRINT:PRINT:PRINT RS#;"1- desde el teclado"
2970 PRINT:PRINT RS#;"2- desde el disco"
2980 PRINT:PRINT RS#;" seleccione opcion :";:OP#=INPUT$ (1):OP=VAL(OP#):PRINT OP
2990 FOR I=1 TO 70:NEXT I:BEEP
3000 ON OP GOTO 3130,3020
3010 GOTO 2930
3019 FOR I=1 TO 400:NEXT I
3020 CLS:PRINT:PRINT RS#;"   CARGA DESDE DISCO"
3030 PRINT:PRINT:PRINT "ingrese nombre del archivo":PRINT:INPUT "(max 6 ca
3040 OPEN NO$1".asc" FOR INPUT AS #1
3050 INPUT #1, NR:DIM M(NR,14):DIM V(13)
3060 FOR I=1 TO NR :INPUT #1, M(I,1), M(I,2)
3070 /*****
3080   lleno matriz
3090 M(I,14)=M(I,2):GOSUB 790
3100 NEXT I
3110 CLOSE #1
3120 RETURN

```

```
3130 CLS:PRINT:PRINT:PRINT:PRINT:PRINT:PRINT:PRINT:PRINT RS$;:INPUT "CANT. DE PARES DE
    LA MUESTRA=";NR
3140 DIM M(NR,14):DIM V(13)
3150 J1=1
3160 FOR I=J1 TO NR
3170 CLS
3180 PRINT"
3190 IF I=1 THEN GOTO 3230
3200 PRINT RS$;"PAR ANTERIOR ";I-1
3210 PRINT:PRINT RS$;"tiempo=";M(I-1,1)
3220 PRINT:PRINT RS$;"Concent=";M(I-1,2)
3230 PRINT:PRINT:PRINT RS$;" PAR NRO. ";I:PRINT:BEEP
3240 PRINT:PRINT RS$;:INPUT"INGRESE t ";M(I,1)
3250 PRINT:PRINT RS$;:INPUT"INGRESE conc. ";M(I,2)
3260 /*****
3270 lleno matriz
3280 M(1,14)=M(1,2):GOSUB 790
3290 FOR J=1 TO 150:NEXT J
3300 NEXT I
3310 RETURN
3320 /*****
3330 calculo de maximos
3340 LY=99999!:HY=0
3350 FOR I=1 TO NR
3360 IF I=1 THEN LX=M(I,1)
3370 IF I=NR THEN HX=M(I,1)
3380 IF M(I,2)>HY THEN HY=M(I,2)
3390 IF M(I,2)<LY THEN LY=M(I,2)
3400 NEXT I
3410 RETURN
3420 /*****
3430 / correccion de errores
3440 CLS:PRINT:PRINT:PRINT RS$;"DESEA MODIFICAR ALGUN VALOR (s/n)";:J$=INPUT$(1)
    :PRINT J$
3450 BEEP:IF J$="s" OR J$="S" THEN GOTO 3470
3460 GOTO 360
3470 CLS:PRINT:PRINT:PRINT RS$;:INPUT "INGRESE NRO.DE PAR (fin ==> <<0>>)";J$
3480 J1=VAL (J$)
3490 IF J1=0 THEN GOTO 140
3500 IF J1>=1 AND J1<=NR THEN GOTO 3530
3510 PRINT:PRINT RS$;"NRO. DE PAR ERRONEO":BEEP
3520 FOR I=1 TO 170:NEXT I:GOTO 3470
3530 PRINT:PRINT RS$;"VALOR ACTUAL DEL PAR";J1;" ES ":PRINT:PRINT RS$;"L=";M(J1
    ,1);" concentr=";M(J1,2):BEEP
3540 PRINT:PRINT RS$;:INPUT " ingreso nuevo t ";J2:M(J1,1)=J2
3550 PRINT RS$;:INPUT "ingrese nueva conc. ";J2:M(J1,2)=J2:M(J1,14)=J2
3560 GOTO 3470
3570 *****/
3580 / agrego datos
3590 CLS:BEEP:PRINT:PRINT RS$;"DESEA AGREGAR MAS PARES A LA MUESTRA":PRINT:PRINT
    RS$;"( s/n )";:J$=INPUT$(1)
3600 IF J$="s" OR J$="S" THEN GOTO 3620
3610 GOTO 530
3620 CLS:BEEP:PRINT:PRINT:PRINT RS$;"CUANTOS PARES DE DATOS AGREGA ";:INPUT
    J1=VAL (J$)
```

```

3640 IF J1<=0 THEN GOTO
3650 ERASE M
3660 DIM M(J1+NR,14)
3670 /*****
3680   voy a rutina de lectura
3690 OPEN NO$+".asc" FOR INPUT AS #1
3700 INPUT#1,NR
3710 LY=99999!;HY=0
3720 GOSUB 3060
3730 NR=NR+J1;J1=NR-J1+1
3740 /*****
3750 / voy a ingr.de datos
3760 GOSUB 3160
3770 GOTO 140
3780 /*****
3790 / deteccion de errores
3800 IF ERL=420 THEN RESUME 450
3810 IF ERL=1170 THEN ERASE OU:ERASE VE:RESUME 0
3815 IF ERL=3040 THEN PRINT:PRINT "ARCHIVO INEXISTENTE":BEEP:RESUME 3019
3820 GOTO 3850
3830 PRINT "NO SE PUEDE OPTIMIZAR,":PRINT:PRINT "CALCULE NUEVAMENTE.":PRINT:PRINT
T "(el menor error es para Coefs.(1)=0 (cero) )"
3840 FOR I=1 TO 500:NEXT I:GOTO 1080
3850 END
3860 /*****
3870   menu de reinicio
3880 CLS
3890 FOR I=1 TO 200:NEXT I
3900 PRINT:PRINT:PRINT RS$;"1- CALCULA NUEVOS COEFICIENTES"
3910 PRINT:PRINT:PRINT RS$;"2- INGRESA OTRA MUESTRA"
3920 PRINT:PRINT:PRINT RS$;"3- SIGUE INTERPOLANDO"
3930 PRINT:PRINT:PRINT RS$;"4- FIN"
3940 PRINT:PRINT:PRINT:PRINT "Ingrese opcion ==>";O$=INPUT$(1):PRINT O$:O=VAL
(O$)
3950 FOR I=1 TO 100:NEXT I
3960 ON O GOTO 1080,3980,2180,4000
3970 GOTO 3860
3980 ERASE M:ERASE V:ERASE VE:NO$="":GOTO 90
3990 STOP
4000 CLS:END
10000 /*****
10010   menu p/selec.impresion
10020 CLS:BEEP
10030 PRINT:PRINT:PRINT RS$;"1- IMPRIME EN PAPEL"
10040 PRINT:PRINT:PRINT RS$;"2- VISUALIZA POR PANTALLA"
10050 PRINT:PRINT:PRINT RS$;"3- NO IMPRIME-NO VISUALIZA"
10060 PRINT:PRINT:PRINT "Seleccione opcion ==>";O$=INPUT$(1):PRINT O$
10070 O=VAL (O$)
10080 ON O GOTO 150,10100,330
10090 GOTO 10000
10100 NHO=0
10110 FOR I=1 TO NR
10120 IF NHO=0 THEN CLS:PRINT "NRO.PAR      TIEMPO      CONCENT.":PRINT
10130 PRINT USING "   ###.##   ###.##   ###.##";I,M(I,1),M(I,2)
10140 NHO=NHO+1

```

```
10150 IF NHO=18 THEN PRINT:PRINT "presione <<RETURN>> para continuar";:0$:INPUT#(1):NHO=0
10160 NEXT 1
10165 PRINT:PRINT "presione <<RETURN>> para continuar";:0$:INPUT#(1)
10170 GOTO 030
```

**TABLA 2. Listado del programa utilizado para el análisis de las componentes de la cinética plasmática.**

## 9 DETERMINACION DE LA BIODISTRIBUCION

Para conocer la cinética del compuesto marcado se recurrió a la biodistribución o distribución biológica, que consiste en elegir una especie animal representativa, inyectar en forma endovenosa el compuesto en estudio y realizar el análisis de su distribución, utilizando técnicas invasivas o no invasivas, como por ejemplo el sacrificio del animal y medición de la radiactividad en los distintos órganos o bien, centellografía lineal o en gamma cámara del animal vivo.

### 9 .1. Elección del modelo biológico

Se utilizaron ratones cepa CFW o NIH, ya que éstos, a diferencia de la rata, poseen vesícula biliar, lo cual los hace muy adecuados para el estudio de agentes hepatobiliares.

### 9 .2. Metodología

Para cada uno de los distintos radiofármacos la técnica fue la misma, consistente en la administración del compuesto por vía endovenosa y sacrificio del animal a distintos tiempos: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos.

Para la administración los animales, con un ayuno de veinticuatro horas, fueron colocados en un brete adecuado y se les dilató la vena de la cola mediante acción calórica, administrándole 0,1 ml de la solución en estudio utilizando una jeringa tipo tuberculina con aguja de 26 G x  $\frac{1}{2}$ .

Hasta el momento del sacrificio los animales se mantuvieron en jaulas metabólicas de 45 mm de diámetro y 90 mm de altura, provistas de un lecho absorbente para retener la orina.

A los tiempos prefijados los animales fueron sacrificados mediante tracción cervical, colectando, con material absorbente, la orina eliminada en ese momento. El animal se colocó en posición decúbito dorsal sobre la camilla de contención, sujetándolo por las cuatro extremidades. A continuación se efectuó un corte desde la región inferior del esternón hasta la genital y con la ayuda de separadores se aisló la piel y el tejido subcutáneo. Se realizó la apertura de la cavidad abdominal, utilizando una pinza de punta fina y tijera de cirugía oftalmológica (Figuras 30, 31, 32).

Se pinzó el colédoco y se realizó un corte por detrás del mismo, retirando la vesícula biliar. Luego se extrajeron el duodeno, bazo, hígado, intestinos, riñones y vejiga. Los órganos fueron colocados en tubos de conteo de 25 mm de diámetro y 90 mm de altura. Se utilizaron seis tubos en los cuales se colocaron: hígado, intestinos, vesícula biliar y duodeno, riñones, vejiga, junto con la orina colectada y en el último tubo el resto del animal (sin la cola para descartar la posible radiactividad que haya quedado retenida en la zona de inyección).

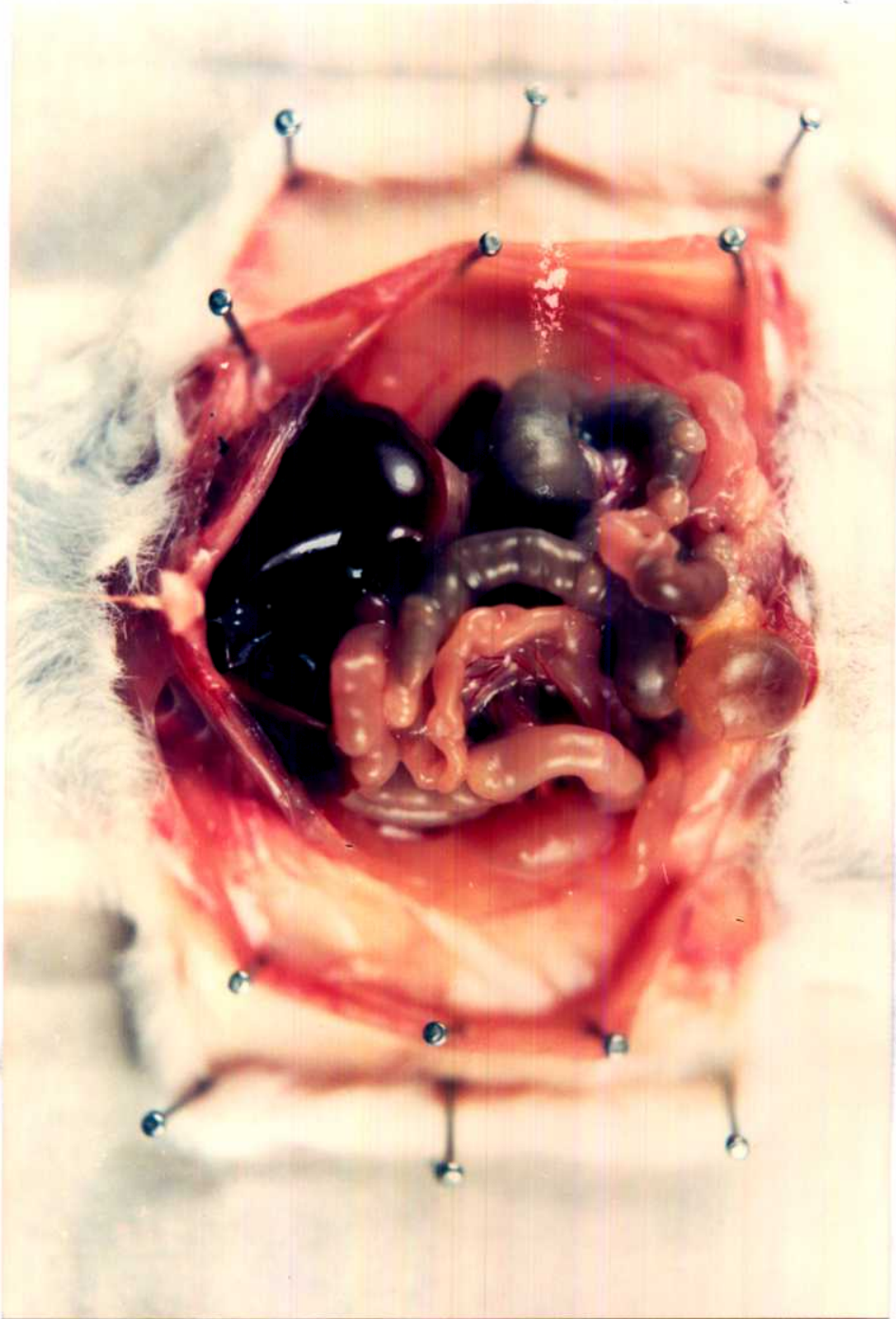


Figura 30. Animal preparado para la extracción de los órganos

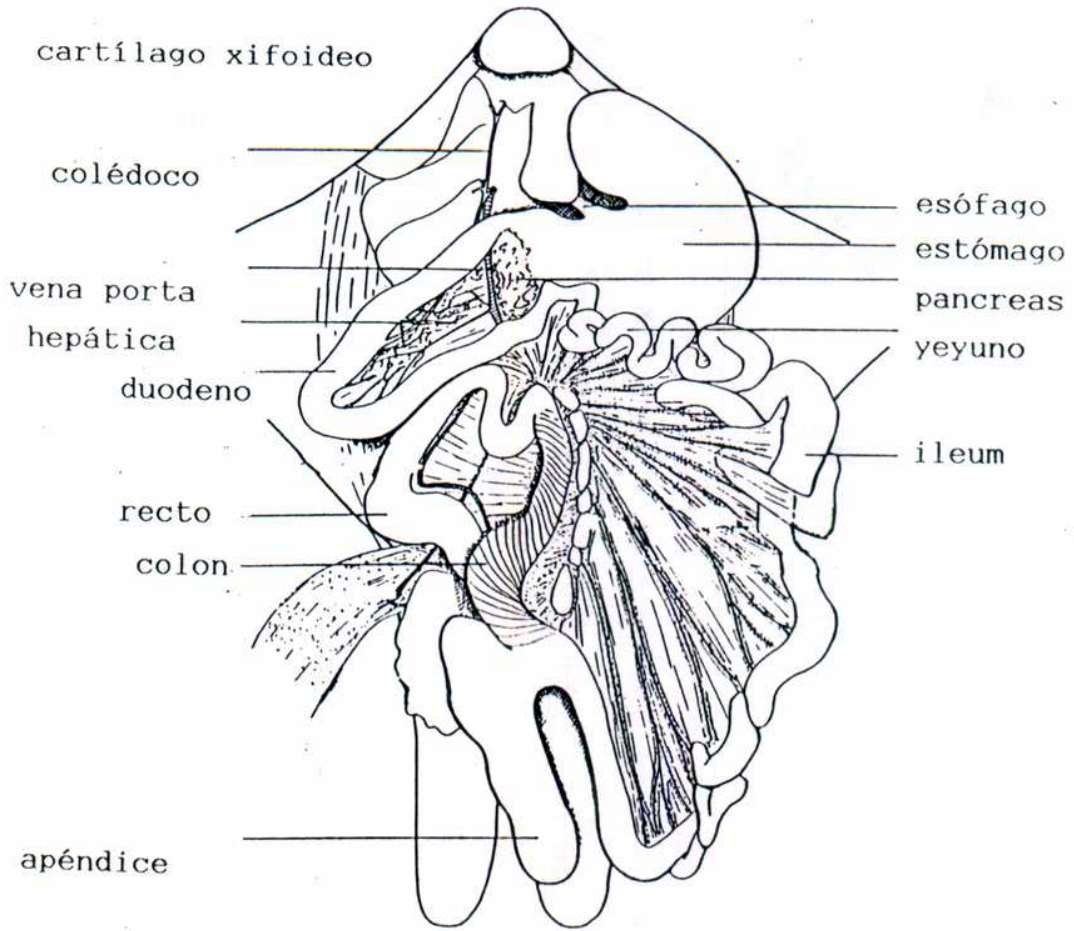


Figura 31. Esquema de la zona en estudio





Figura 32. Detalle del colédoco y vías biliares

Los tubos fueron medidos en una cámara de ionización, tomándose como dosis inyectada la suma de actividad de todos los tubos correspondientes a un animal. Con estos datos se calculó el por ciento de la dosis inyectada en cada órgano. Con estos resultados se construyeron las curvas de por ciento de dosis inyectada (%D.I.) en función del tiempo, para hígado, vesícula biliar más duodeno, intestinos y orina.

#### 10. RUTAS METABOLICAS

Dado que las rutas de eliminación de los N-derivados son dos: la biliar y la renal, es necesario determinar si el radiofármaco es eliminado en forma metabolizada o no; para ello se reinyectó el contenido de la vesícula biliar y la orina.

##### 10.1. Elección del modelo biológico

Al igual que para la determinación de la biodistribución se utilizaron ratones cepa CFW o NIH, con veinticuatro horas de ayuno.

##### 10.2. Obtención de la bilis y orina para la reinyección

Se administró el radiofármaco en estudio a un lote de diez ratones, dejados en ayunas veinticuatro horas antes. Los animales fueron colocados en las jaulas metabólicas y se sacrificaron por tracción cervical, al tiempo de máxima captación en vesícula biliar. La orina eliminada en ese momento se colectó en un tubo de vidrio. A continuación se colocó el animal en la camilla de contención y procediendo según la técnica ya descrita, se le extrajo la vejiga, colocando su contenido en el mismo tubo.

Luego se retiró la vesícula biliar, se colocó en un vidrio cóncavo, se despinzó el colédoco, colectándose la bilis.

Luego de repetir esta operación en cada animal del lote se reunió la orina y por otro lado el contenido biliar, resultando dos muestras que fueron resuspendidas en solución fisiológica para su posterior administración.

Estas muestras fueron administradas en ratones dejados en ayunas veinticuatro horas. Para ello se tomó una muestra de 0,1 ml de bilis y otra de 0,05 ml de orina calibradas en el espectrómetro auto-gamma, cuidando que la actividad no fuera mayor de 1  $\mu$ Ci.

Se administró la orina y la bilis siguiendo la técnica ya descrita y se determinó en cada caso la biodistribución, utilizando para las mediciones el espectrómetro auto-gamma.

Con los datos obtenidos se calcularon los correspondientes porcentajes de la dosis inyectada que fueron comparados con los valores normales utilizando para ello la prueba del "t" pareado, con un nivel de significación del 0,05.

## 11. PODER LIPOFILICO

Como ya se mencionó el poder lipofílico de los complejos de Tc-99m es un factor determinante en su limpieza relativa urinaria/hepatobiliar. Este parámetro está representado por el coeficiente de partición octanol/agua. Para calcularlo se procedió de la siguiente manera: se marcó cada derivado en la forma habitual, se tomó 1 ml de la solución del compuesto marcado y se mezcló con igual volumen de octanol, manteniéndolo en agitación a 37°C durante dos horas. Transcurrido ese tiempo se separaron las dos capas y se midió la radiactividad en cada una de ellas, expresando el coeficiente de partición como:

$$\text{Coeficiente de partición} = \frac{a_o}{a_a}$$

siendo:

$a_o$ : actividad medida en la capa orgánica

$a_a$ : actividad medida en la capa acuosa

Por comodidad los resultados se tabulan como  $\ln a_o/a_a$ .

## 12. USO EN SERES HUMANOS

### 12.1. Mebrofenin

Con la finalidad de evaluar el comportamiento en seres humanos se administró el Mebrofenin a voluntarios normales y a portadores de distintas patologías.

El trabajo en seres humanos presentó dos aspectos, el primero fue el de relacionar voluntarios normales y voluntarios patológicos, mediante la utilización de HIDA 3 o Disida, uno de los agentes de visualización del tracto hepatobiliar más utilizado, y el Mebrofenin; el otro fue la estimación del uso potencial de este radiofármaco ante los distintos valores de bilirrubina sérica.

Se estudiaron cinco pacientes sin patología hepatobiliar demostrable, que fueron utilizados como testigos, y doce pacientes portadores de distintas entidades clínico-patológicas, los que se distribuyeron como se indica a continuación: dos pacientes con colecistitis aguda, dos pacientes con litiasis residual del colédoco, tres pacientes con litiasis coledociana, un paciente con carcinoma de la cabeza del páncreas, un paciente con carcinoma de la encrucijada hepatobiliar, un paciente con ligadura quirúrgica del colédoco, un paciente portador de cirrosis biliar primaria y un paciente con un cuadro de pancreatitis aguda.

Los valores de bilirrubina plasmática, evaluados espectrofotométricamente, están comprendidos entre 1,1 mg/% y 30,2 mg/% para la total y 0,57 mg/% y 23 mg/% para la directa.

Con el paciente con un ayuno de doce horas y en posición decúbito dorsal bajo el detector de la cámara gamma se realizó la extracción de sangre, en los patológicos, para determinar los niveles séricos de bilirrubina.

#### 12.1.1. Metodología

La metodología que se detalla a continuación es la seguida para la administración del Disida y del Mebrofenin.

Se administró por vía intravenosa 5 mCi del radiofármaco y se adquirieron imágenes estáticas de la siguiente forma: a los 5, 15, 30, 45 y 60 minutos en posición anteroposterior, totalizando 500.000 cuentas para la primera toma y el tiempo utilizado en ésta para las subsiguientes. En los casos en que no se visualizó vesícula biliar el estudio se prolongó durante tres horas; luego se le ordenó al paciente que recolectara la orina emitida durante tres horas contadas desde el momento de la administración del radiofármaco. Previamente se había determinado la actividad inyectada y al medir la excretada en la orina se determinó el porcentaje eliminado.

Entre ambos estudios mediaron 48 a 72 horas, determinándose la bilirrubenia antes de cada uno de ellos.

Se efectuaron las siguientes determinaciones con ambos radiofármacos:

- .- relación de la actividad hígado/corazón tomadas como densidad de actividad por pixel, en la adquisición de los 5 minutos.
- .- relación de actividad hígado/riñón, de la misma forma y en la misma imagen que la anterior.
- .- determinación de la actividad eliminada por la orina durante las tres horas siguientes a la administración del compuesto.

#### 12.2. HIDA 10

Como en el caso del Mebrofenin, para evaluar el comportamiento en humanos se administró el HIDA 10 a voluntarios normales.

El trabajo en seres humanos tuvo como objetivo fundamental evaluar el comportamiento de este radiofármaco en voluntarios normales en alguno de los cuales se había realizado el estudio similar con Mebrofenin.

#### 12.2.1. Metodología

Se administró por vía intravenosa 5 mCi del radiofármaco y se adquirieron imágenes estáticas de la siguiente forma:

a los 5, 15, 30, 45 y 60 minutos en posición anteroposterior, totalizando 500.000 cuentas para la primera toma y el tiempo utilizado en ésta para las subsiguientes.

En el caso de no visualizarse la vesícula biliar el estudio se prolongó durante tres horas; luego se ordenó al paciente que recolectara la orina emitida durante tres horas contadas desde el momento de la administración del compuesto.

to. Previamente se había determinado la actividad inyectada y al medir la excretada en orina se determinó el porcentaje eliminado.

Entre el estudio con Mebrofenin y el de HIDA 10 mediaron 48 a 72 horas y se efectuaron las siguientes determinaciones:

- .- relación de la actividad hígado/corazón tomadas como densidad de actividad por pixel, en la adquisición de los 5 minutos.
- .- relación de actividad hígado/riñón, de la misma forma y en la misma imagen anterior.
- .- determinación de la actividad eliminada en orina durante las tres horas siguientes a la administración del compuesto.
- .- tiempo de aparición de las vías intrahepáticas.
- .- tiempo de aparición de las vías extrahepáticas.
- .- tiempo de aparición de la vesícula biliar.
- .- tiempo de aparición del duodeno.

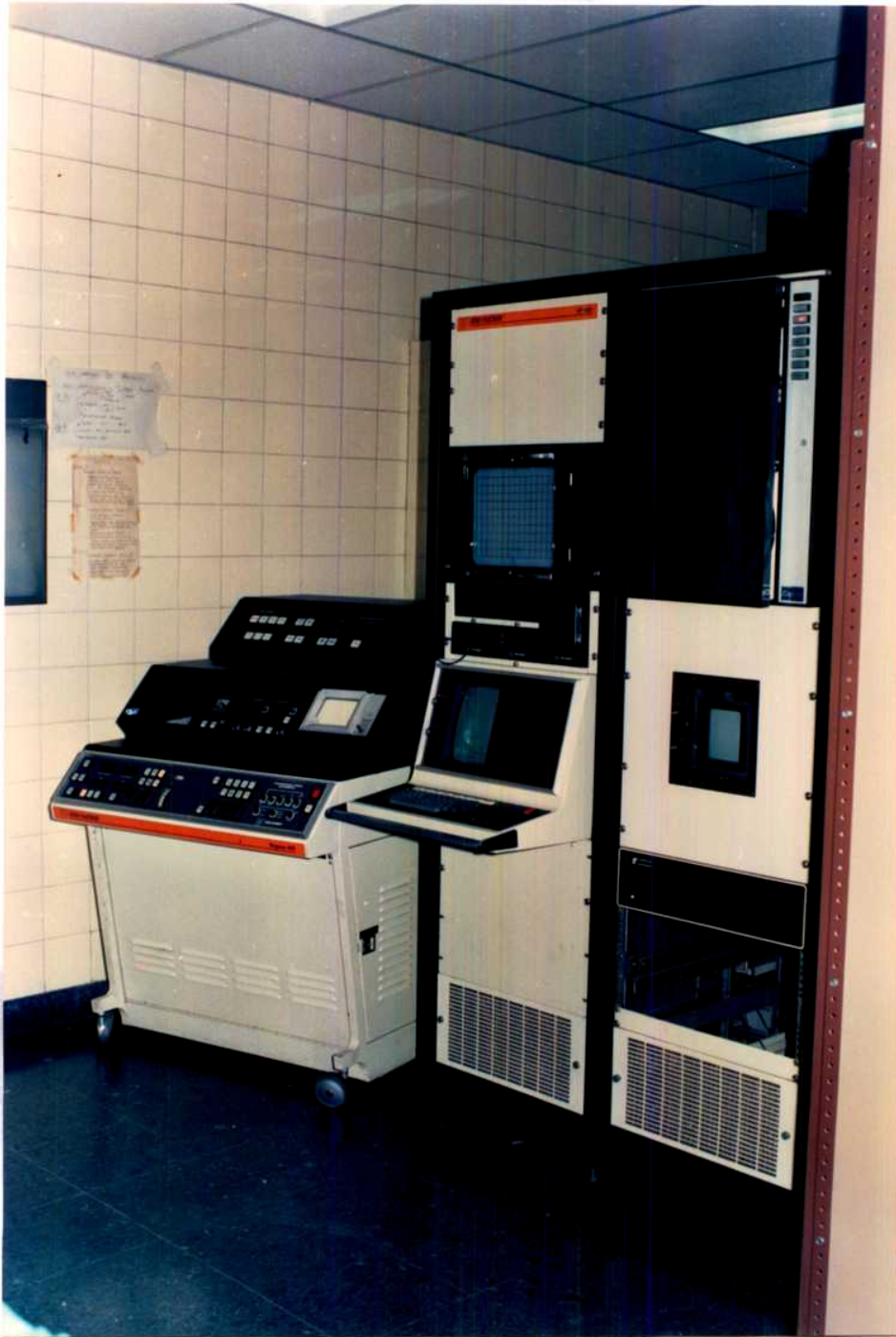


Figura 33. Gamma cámara utilizada en el estudio en seres humanos





Figura 34. Paciente preparado para el estudio

## RESULTADOS



## 1. CONTROL DE LOS N-DERIVADOS DEL ACIDO IMINODIACETICO

De acuerdo a lo expuesto en Materiales y Métodos fueron sintetizados y controlados los siguientes derivados:

- HIDA 1 o ácido N-(2,6 dimetilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético.
- HIDA 2 o ácido N-(2,6 dietilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético.
- HIDA 3 o ácido N-(2,6 diisopropilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético.
- HIDA 4 o ácido N-(4 butilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético.
- HIDA 5 o ácido N-(2,6 diisopropilfenilcarbamoiletil)iminodiacético.
- HIDA 6 o ácido N-(4 butilfenilcarbamoiletil 1-)iminodiacético.
- HIDA 7 o ácido N-(4 butilfenilcarbamoiletiliden)iminodiacético.
- HIDA 10 o ácido iminodibenzilcarbamoilmetiliminodiacético.
- Mebrofenin o ácido N (3 bromo 2,4,6 trimetilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético.
- Iodofenin o ácido N-(3 iodo 2,4,6 trimetilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético.
- Iodo-dietil-IDA o ácido N-(4 iodo 2,6 dietilfenilcarbamoilmetil)iminodiacético.

En la tabla 3 se presentan los resultados del microanálisis, junto con la fórmula molecular para los HIDAs 1, 2, 3 y 4.

En las dos tablas siguientes se presentan los resultados correspondientes para el resto de los derivados.

En la tabla 6 se tabulan los puntos de fusión y los correspondientes rendimientos de reacción para cada uno.

Los resultados correspondientes a los espectros RMN se presentan en las tablas 7, 8, 9, 10 y 11.

Por último los resultados de los espectros de masa se encuentran listados en las tablas 12 al 15.

## 2. FORMACION DEL COMPLEJO

### 2.1. Control de la solución reductora

Se efectuó tal como se indicó en Materiales y Métodos, calculándose en todos los casos el contenido de  $\text{Cl}_2\text{Sn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , resultando entre un 95 y un 98% del valor teórico.

### 2.2. Control de la solución de pertecneciato de sodio (Tc-99m)

2.2.1. Determinación de Mo-99: siguiendo el procedimiento ya descrito no se encontró más de  $1,0 \mu\text{Ci}$  de Mo-99 por mCi de Tc-99m. En la administración a seres humanos se usaron sólo eluciones con no más de  $5 \mu\text{Ci}$  de Mo-99 por dosis de solución de pertecneciato de sodio (Tc-99m) a ser administrada.

HIDAS	FORMULA MOLECULAR	MICROANALISIS (%)					
		CALCULADO		ENCONTRADO			
		C	H	N	C	H	
1	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	57,13	6,17	9,52	57,15	6,39	9,55
2	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	59,61	6,88	8,69	59,70	7,01	8,67
3	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	61,70	7,48	8,00	61,66	7,55	7,78
4	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	59,61	6,88	8,69	59,84	7,02	8,89

TABLA 3 COMPOSICION CENTECIMAL Y FORMULA MOLECULAR DE LOS HIDAS 1, 2, 3 y 4

HIDAS	FORMULA MOLECULAR	CALCULADO			MICROANALISIS (%)			ENCONTRADO	
		C	H	N	C	H	N	H	N
5	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	62,63	7,74	7,69	62,97	7,72	7,87		
6	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	60,71	7,14	8,33	60,88	7,43	8,11		
7	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	60,71	7,14	8,33	60,90	7,10	8,20		
10	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .H <sub>2</sub> O	62,18	5,70	7,25	63,10	5,77	7,25		

TABLA 4 COMPOSICION CENTECIMAL Y FORMULA MOLECULAR DE LOS HIDAS 5, 6, 7 y 10

HIDAS	FORMULA MOLECULAR	MICROANALISIS (%)				
		C	H	N	halógeno...	
Mebrofenin	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> Br	CALCULADO	46,52	4,91	7,23	20,65
		ENCONTRADO	46,58	5,21	7,55	20,89
Iodofenin	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> I	CALCULADO	41,47	4,38	6,45	29,26
		ENCONTRADO	41,58	4,62	6,35	29,23
I-dietil-IDA	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> I	CALCULADO	42,87	4,72	6,25	28,31
		ENCONTRADO	42,89	4,79	6,28	82,33

TABLA 5 COMPOSICION CENTECIMAL Y FORMULA MOLECULAR DEL MEBROFENIN, IODOFENIN Y IODO-DIETIL-IDA

HIDAS	PUNTO DE FUSION (°C)	RENDIMIENTO DE REACCION (%)
1	218	80
2	186-188	70
3	195-197	70
4	196-198	80
5	150	70
6	200-201	70
7	222-223	70
10	179-180	68
Mebrofenin	210-211	72
Iodofenin	224	70
Iodo-dietil-IDA	222	70

TABLA 6 PUNTOS DE FUSION Y RENDIMIENTOS DE REACCION

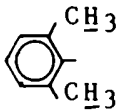
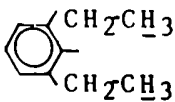
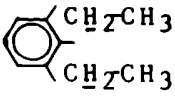
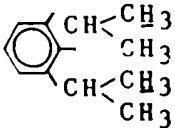
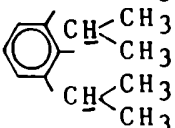
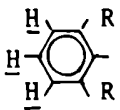
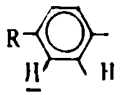
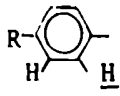



ASIGNACION	$\delta$ (ppm)			
	1	2	3	4
-COOH	9,38(s)	9,30(s)	9,42(s)	10,36(s)
-N-CH <sub>2</sub> -COOH	3,56(s)	3,48(s)	3,58(s)	3,58(s)
-CO-CH <sub>2</sub> -N	3,48(s)	3,40(s)	3,52(s)	3,50(s)
	2,13(s)			
		0,98(t)		
		2,40(c)		
			1,12(d)	
			3,05(m)	
	7,00(s)	6,98(s)	7,18(s)	
				7,55(d)
				7,15(d)
CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> - 				2,55(t)
CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> - 				1,45(bd)
CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> - 				0,90(t)

TABLA 7 ESPECTROS RMN DE LOS HIDAs 1, 2, 3 y 4

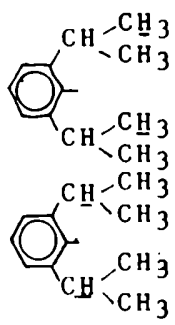
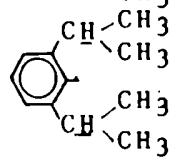
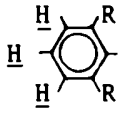
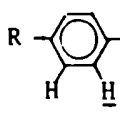
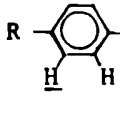



ASIGNACION	$\delta$ (ppm)		
	5	6	7
-COOH	9,48(s)	10,3 (s)	10,0 (s)
-N-CH <sub>2</sub> -COOH	3,52(s)	3,52(s)	3,41(s)
-CO- $\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}$ -N	3,65(c)	3,58(c)	
-CO- $\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}$ -N	1,27(d)	1,26(d)	
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N			2,90(t)
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N			2,44(s)
	1,11(d)		
	3,01(m)		
	7,14(m)		
		7,14(d)	7,04(d)
		7,52(d)	7,42(d)
CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> - $\underset{\text{CH}_2}{\text{CH}_2}$ - 		2,53(t)	2,50(t)
CH <sub>3</sub> - $\underset{\text{CH}_2}{\text{CH}_2}$ - $\underset{\text{CH}_2}{\text{CH}_2}$ -CH <sub>2</sub> - 		1,45(m)	1,39(m)
$\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}_3}$ -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> - 		0,89(t)	0,82(t)

TABLA 8 . ESPECTROS RMN DE LOS HIDAs 5, 6 y 7

" 126 "

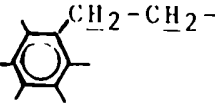
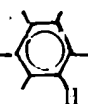
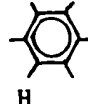
ASIGNACION	$\delta$ (ppm)
-N- <u>CH</u> <sub>2</sub> -COOH	3,46 (s)
-CO- <u>CH</u> <sub>2</sub> -N	3,50 (s)
 <chem>Cc1ccccc1CC</chem>	2,50 (c)
 <chem>C1=CC=CC=C1</chem>	7,22 (s)
 <chem>C1=CC=CC=C1</chem>	7,30 (s)

TABLA 9. ESPECTRO RMN DEL HIDA 10



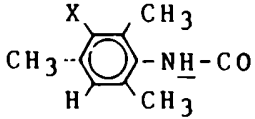
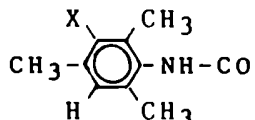
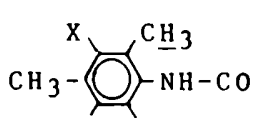
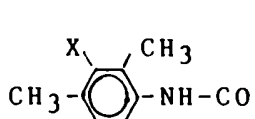
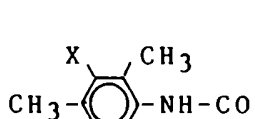
ASIGNACION	$\delta$ (ppm)	
	MEBROFENIN X=Br	IODOFENIN X=I
-COOH	9,58(s)	9,58(s)
-N-CH <sub>2</sub> -COOH	3,58(s)	3,56(s)
-CO-CH <sub>2</sub> -N	3,50(s)	3,49(s)
	12,35(s)	12,34(s)
	7,08(s)	7,10(s)
	2,22(p)	2,28(p)
	2,07(s)	2,07(s)
	2,31(s)	2,37(s)

TABLA 10 ESPECTROS RMN DEL MEBROFENIN E IODOFENIN

ASIGNACION	$\delta$ (ppm)
-COOH	9,48 (s)
$  \begin{array}{c}  \text{CH}_2\text{CH}_3 \\    \\  \text{I}-\text{C}_6\text{H}_3-\text{NH}-\text{CO} \\    \quad   \\  \text{H} \quad \text{CH}_2\text{CH}_3  \end{array}  $	7,45 (s)
-N-CH <sub>2</sub> -COOH	3,56 (s)
-CO-CH <sub>2</sub> -N	3,49 (s)
$  \begin{array}{c}  \text{CH}_2\text{CH}_3 \\    \\  \text{I}-\text{C}_6\text{H}_3-\text{NH}-\text{CO} \\    \\  \text{CH}_2\text{CH}_3  \end{array}  $	2,49 (c)
$  \begin{array}{c}  \text{CH}_2\text{CH}_3 \\    \\  \text{I}-\text{C}_6\text{H}_3-\text{NH}-\text{CO} \\    \\  \text{CH}_2\text{CH}_3  \end{array}  $	1,05 (t)

TABLA II ESPECTRO RMN DEL IODO-DIETIL-IDA

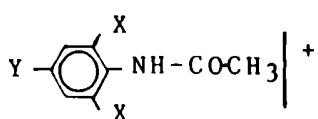
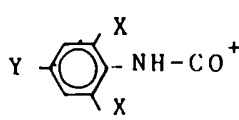
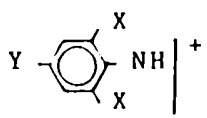
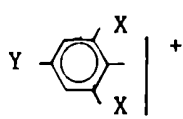
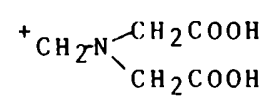
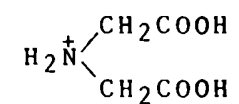
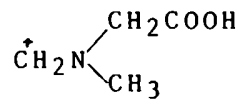
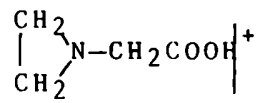
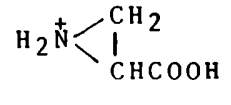
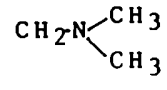
ASIGNACION	m/e (%)			
	1 X=Me Y=H	2 X=Et Y=H	3 X=iPr Y=H	4 X=H Y=nBu
M <sup>+</sup>	294(0)	322(0)	350(0)	322(0)
M <sup>+</sup> -COOH	249(2)	277(3)	305(3)	277(3)
	163(37)	191(15)	219(11)	191(17)
	148(9)	176(20)	204(39)	176(11)
	120(49)	148(47)	176(16)	148(10)
	106(11)	134(21)	162(14)	134(29)
	146(100)	146(100)	146(100)	146(100)
	134(21)	134(21)	134(4)	134(3)
	102(68)	102(82)	102(70)	102(70)
	101(42)	101(19)	101(10)	101(53)
	88(99)	88(68)	88(47)	88(72)
	58(62)	58(50)	58(41)	58(74)

TABLA 12. ESPECTROS DE MASA DE LOS HIDAs 1, 2, 3 y 4

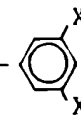
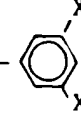
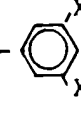

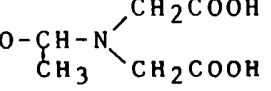
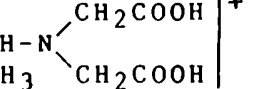
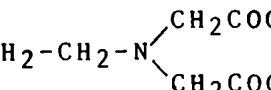
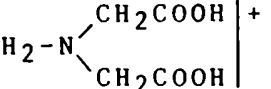
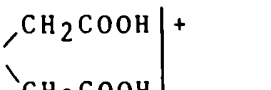
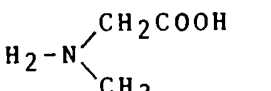
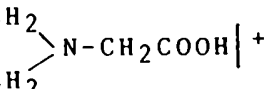
ASIGNACION	m/e (%)		
	5 X=iPr Y=H	6 X=H Y=nBu	7 X=H Y=nBu
M <sup>+</sup>	364	336(0,3)	336(4,2)
M <sup>+</sup> -COOH	319	318(3,1)	-
Y-  -NH-CO   <sup>+</sup>	204	176(1,9)	176(3,3)
Y-  -NH   <sup>+</sup>	176	149(12,1)	149(23,3)
Y-    <sup>+</sup>		133(1,5)	
CH <sub>2</sub> -  -NH   <sup>+</sup>		106(100)	106(82,6)
CO-    <sup>+</sup>	188	188(1,1)	
   <sup>+</sup>	160	160(12,3)	
CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -    <sup>+</sup>			160(24,8)
CH <sub>2</sub> -    <sup>+</sup>			146(13,2)
   <sup>+</sup>		132(8,3)	132(4,3)
[160-44] <sup>+</sup>	116	-	
[160-45] <sup>+</sup>	-	115(28,4)	
M-45 <sup>+</sup>		291(2,3)	291(9,6)
CH <sub>2</sub> -    <sup>+</sup>		102(4,8)	102(22,3)
   <sup>+</sup>		101(0,5)	101(1,7)

TABLA 13. ESPECTROS DE MASA DE LOS HIDAs 5, 6 y 7

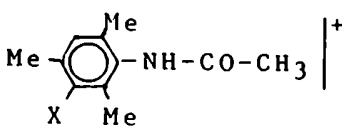
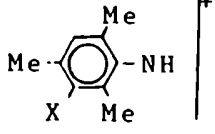
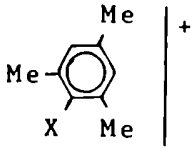
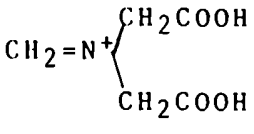
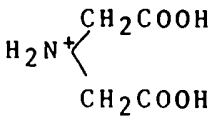
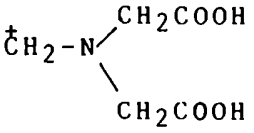
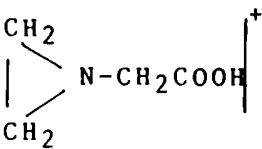
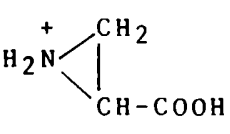
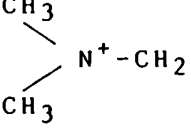
ASIGNACION	m/e (%)	
	MEBROFENIN X=Br	IODOFENIN X=I
M <sup>+</sup>	387(7,9)	434(13)
M-18 <sup>+</sup>	-	416(53,7)
M-45 <sup>+</sup>	341(3,3)	389(4,6)
M-18-45 <sup>+</sup>	323(21,6)	371(60,7)
	255(8,4)	303(17,8)
	213(27,5)	261(46,9)
	198(4,5)	245(2,1)
	146(100)	146(100)
	134(23,1)	134(20,2)
	102(70,8)	102(73,6)
	101(71,1)	101(96,8)
	88(70,3)	88(50,4)
	58(76,8)	58(64,7)

TABLA 14 . ESPECTROS DE MASA DEL MEBROFENIN E IODOFENIN

ASIGNACION	m/e (%)
M <sup>+</sup>	448(25,7)
M-18 <sup>+</sup>	430(16,7)
M-45 <sup>+</sup>	403(6,7)
M-18-45 <sup>+</sup>	385(8,9)

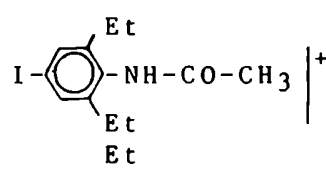
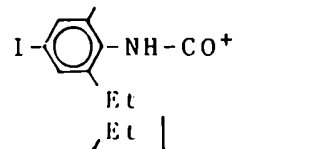
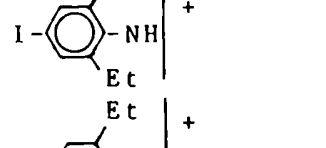
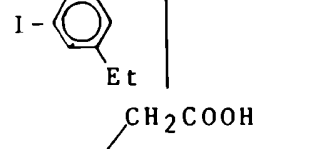
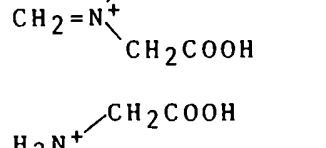
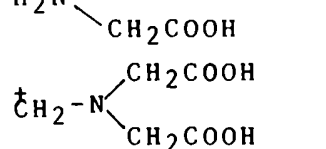
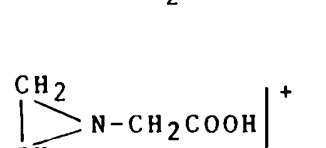
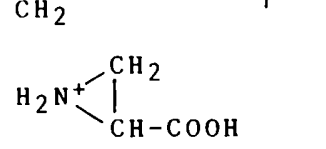
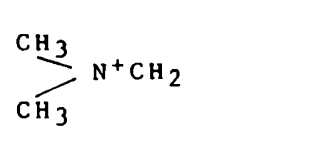
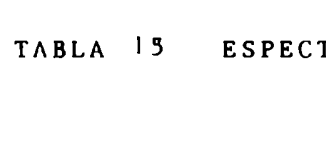
	317(20,1)
	302(12,1)
	274(22)
	259(2,3)
	146(100)
	134(4,5)
	102(90,6)
	101(39,7)
	88(71,4)
	58(76,4)

TABLA 15 ESPECTRO DE MASA DEL IODO-DIETIL-IDA

2.2.2. Determinación de ión aluminio: en todas las eluciones utilizadas no se encontró más de 10 ppm de  $Al^{3+}$  utilizando la metodología ya descripta.

### 2.3. Pureza radioquímica del bis complejo

Los Rfs obtenidos con los distintos sistemas de solventes se consignan en la tabla 16.

Con el fin de simplificar la metodología de control de la pureza radioquímica de los distintos bis complejos se adoptó en todos los casos el par ITLC-SG/metanol 85% y ITLC-SG/MEC:tolueno (1:1,5) para la determinación de  $^{99m}TcO_4^-$  y coloide respectivamente.

En todas las preparaciones se obtuvo una pureza radioquímica mayor del 95%.

## 3. DETERMINACION DE LA DOSIS A ADMINISTRAR

### 3.1. Determinación de la dosis letal cincuenta

Se realizó para todos los derivados utilizados siguiendo la metodología ya descripta. Los resultados, expresados como porcentaje de mortalidad en función de la dosis de complejo administrada (mg/kg de peso corporal) se presentan en las tablas 17, 18, 19, 20 y 21.

Con estos resultados se construyeron los gráficos correspondientes (probit-log) para determinar la DL-50 (figuras 35, 36, 37, 38 y 39).

Los resultados se presentan en la tabla 22, junto con los correspondientes a los HIDAs 1, 2, 3, 4 y 5 que habían sido calculados en un trabajo anterior.

En todos los casos las muertes producidas fueron instantáneas y el estudio patológico de los órganos conservados no reveló ninguna anomalía.

### 3.2. Dosis a administrar en seres humanos

En todos los casos se calculó el factor de seguridad, o sea el cociente entre la DL-50 y la DMH, considerando esta última como el contenido de un vial (20 mg). Los resultados se presentan en la tabla 23.

## 4. DETERMINACION DE LA TOXICIDAD AGUDA

Fueron estudiadas todas las preparaciones destinadas a la administración en seres humanos, no encontrándose en ninguna indicios de toxicidad.

## 5. ESTUDIOS FARMACOLOGICOS

### 5.1. Esterilidad

Se realizó el ensayo de esterilidad en todas las partidas que serían administradas en seres humanos, no encontrándose contaminación microbiana en ninguna de ellas.

N-DERIVADO	SOPORTE	SOLVENTE	R <sub>f</sub> COMP.	R <sub>f</sub> COLOIDE	R <sub>f</sub> <sup>99mTcO<sub>4</sub><sup>-</sup></sup>
HIDA 1	ITLC-SG	Metanol 85%	1,0	0,0	1,0
		NaCl 20%	0,5	0,0	1,0
HIDA 2	ITLC-SG	Metanol 85%	1,0	0,0	1,0
		NaCl 2%	0,5	0,0	1,0
HIDA 3	ITLC-SG	Metanol 85%	1,0	0,0	1,0
		MEC-tolue- no 1-1,5	0,0	0,0	0,5
HIDA 4	ITLC-SG	Metanol 85%	1,0	0,0	1,0
		MEC-tolue- no 1-1,5	0,0	0,0	0,5
HIDA 5	ITLC-SG	Metanol 85%	1,0	0,0	1,0
		MEC-tolue- no 1-1,5	0,0	0,0	0,5
HIDA 6	ITLC-SG	Metanol 85%	1,0	0,0	1,0
		MEC-tolue- no 1-1,5	0,0	0,0	0,5
HIDA 7	ITLC-SG	Metanol 85%	1,0	0,0	1,0
		MEC-tolue- no 1-1,5	0,0	0,0	0,5
HIDA 10	ITLC-SG	Metanol 85%	1,0	0,0	1,0
		MEC-tolue- no 1-1,5	0,0	0,0	0,5
Mebrofenin	ITLC-SG	Metanol 85%	1,0	0,0	1,0
		MEC-tolue- no 1-1,5	0,0	0,0	0,5
	Whatman tratado	MEC	0,0	0,0	1,0
Iodofenin	ITLC-SG	Metanol 85%	1,0	0,0	1,0
		MEC-tolue- no 1-1,5	0,0	0,0	0,5
	Whatman tratado	MEC	0,0	0,0	1,0
Iodo-dietil	ITLC-SG	Metanol 85%	1,0	0,0	1,0
		MEC-tolue- no 1-1,5	0,0	0,0	0,5
	Whatman tratado	MEC	0,0	0,0	1,0

TABLA 16. SISTEMAS CROMATOGRAFICOS



Dosis (mg/kg)	% de mortalidad
120	100
110	100
100	100
90	95
85	80
80	55
75	33
70	15
65	7
60	0
50	0

TABLA 17 DETERMINACION DE LA DOSIS LETAL CINCUENTA DEL  
HIDA 6

Dosis	% de mortalidad
140	100
130	100
120	100
110	98
100	93
90	75
80	44
75	40
65	20
60	0
50	0

TABLA 18. DETERMINACION DE LA DOSIS LETAL CINCUENTA DEL HIDA 7

Dosis (mg/kg)	% de mortalidad
110	100
100	100
95	100
92	83
88	70
86	40
84	30
82	10
79	5
70	0
60	0
50	0

TABLA 13 DETERMINACION DE LA DOSIS LETAL CINCUENTA DEL HIDA 10

Dosis (mg/kg)	% de mortalidad
370	100
335	100
270	100
220	100
200	100
180	83,3
165	66,7
151	80
140	60
125	50
113	50
96	33
90	20
85	0
80	0
75	0

TABLA 20 DETERMINACION DE LA DOSIS LETAL CINCUENTA DEL  
MEBROFENIN

Dosis (mg/kg)	% de mortalidad
188	100
176	75
164	100
155	75
146	60
136	50
124	33
117	50
113	33
104	25
90	0
80	0
75	0

TABLA 21 DETERMINACION DE LA DOSIS LETAL CINCUENTA DEL IODOFENIN

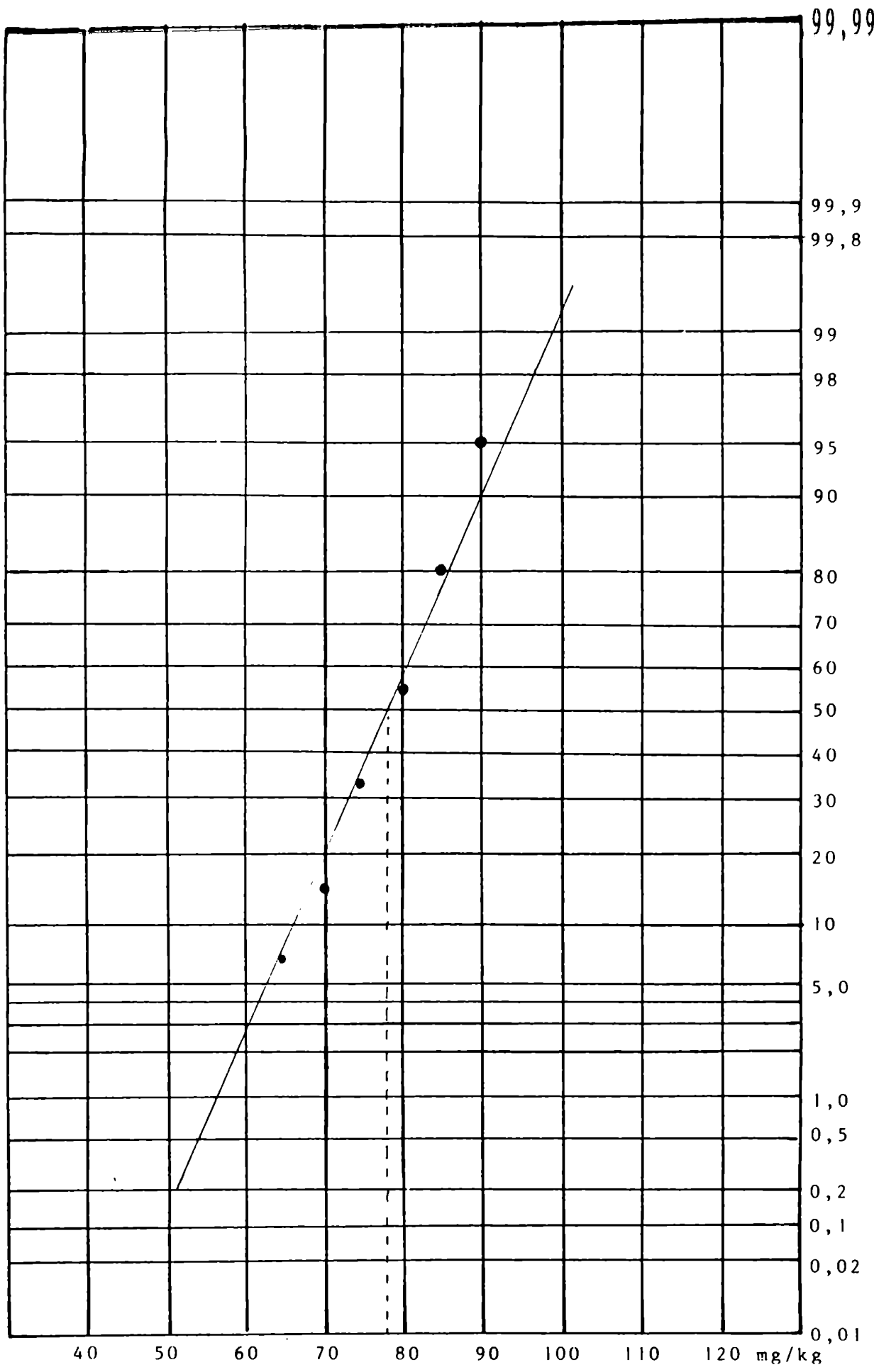


Figura 35. Dosis letal cincuenta del HIDA 6

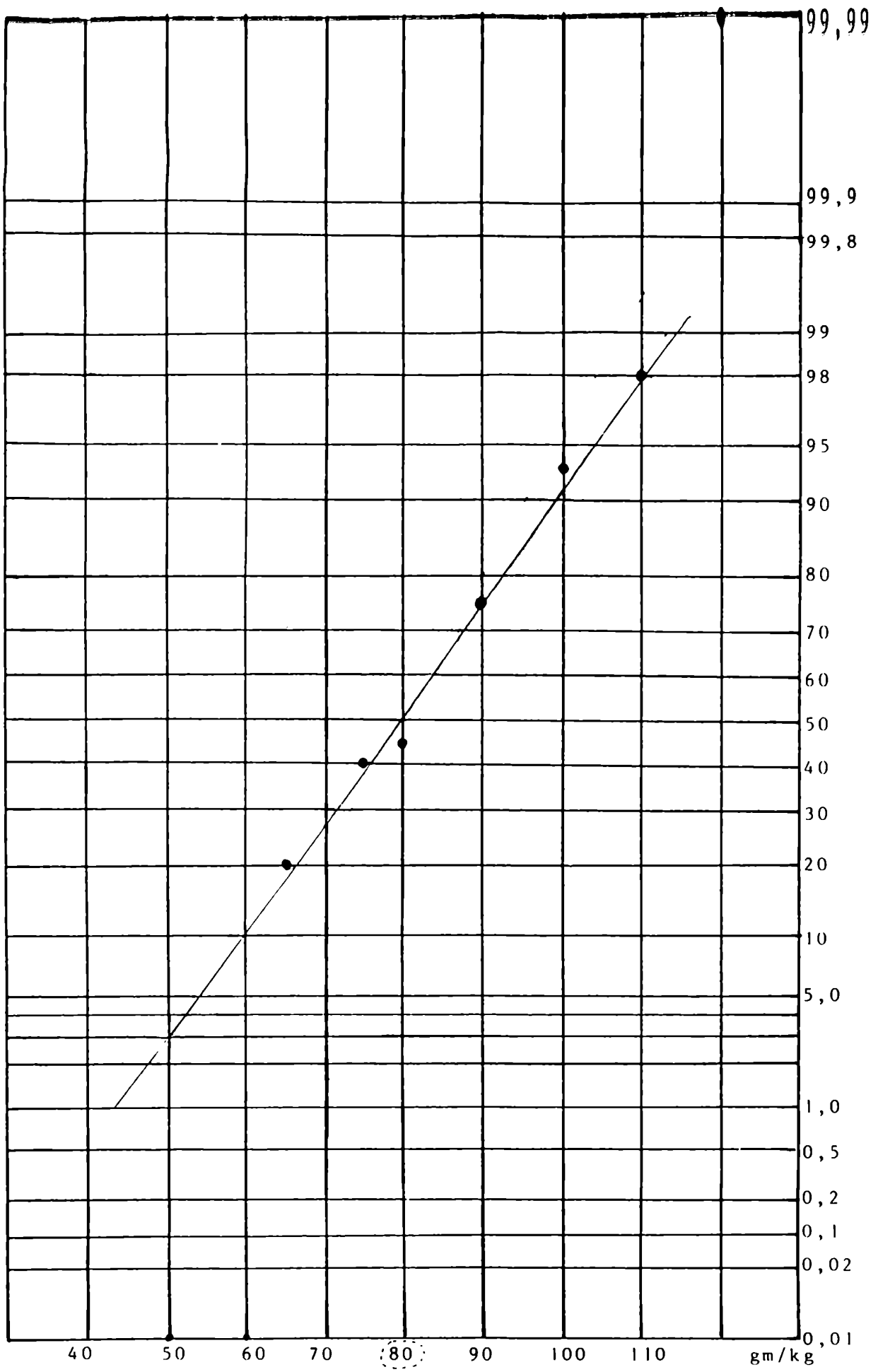


Figura 3'6. Dosis letal cincuenta del HIDA 7

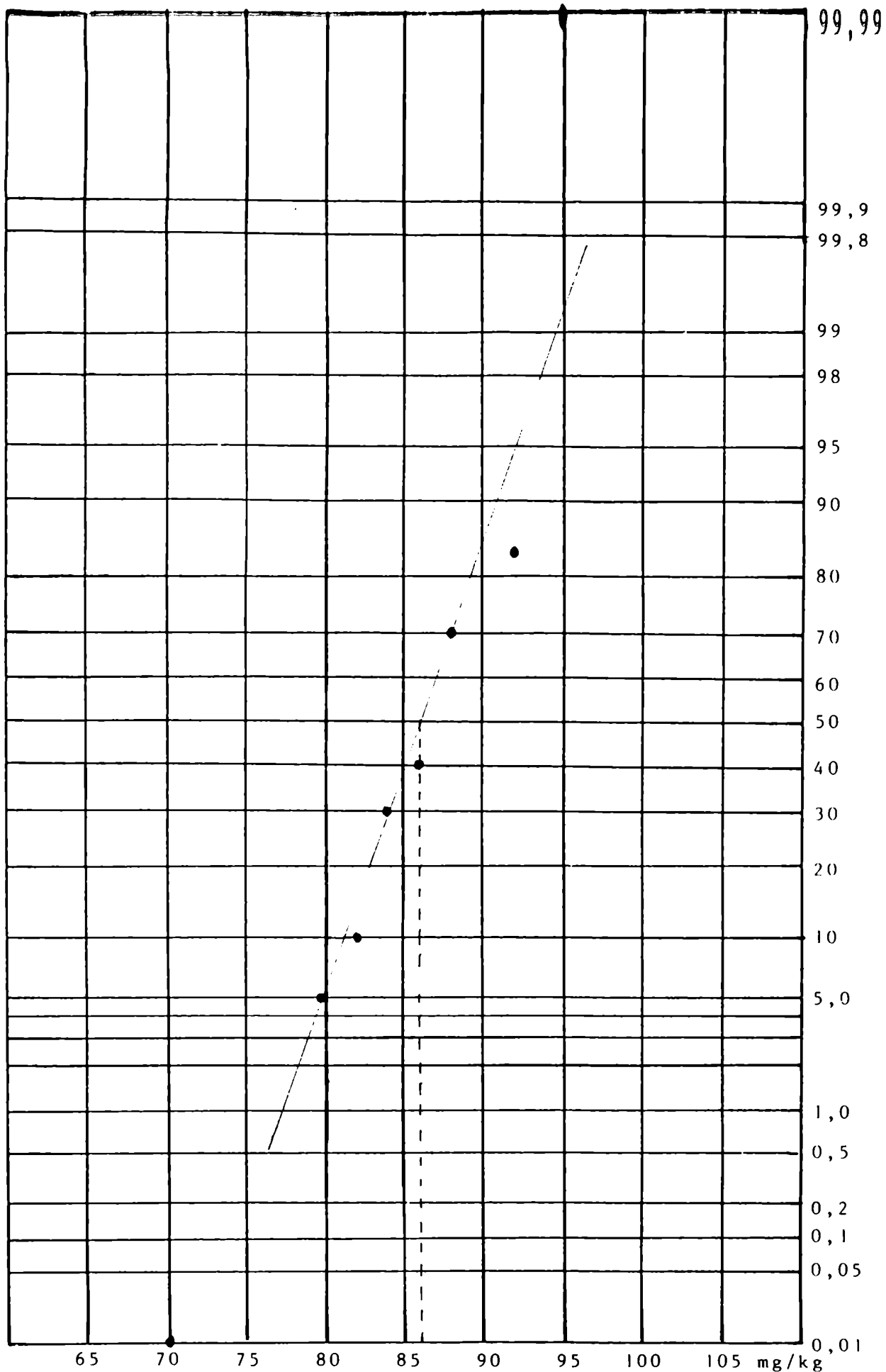


Figura 37. Dosis letal cincuenta del HIDA 10



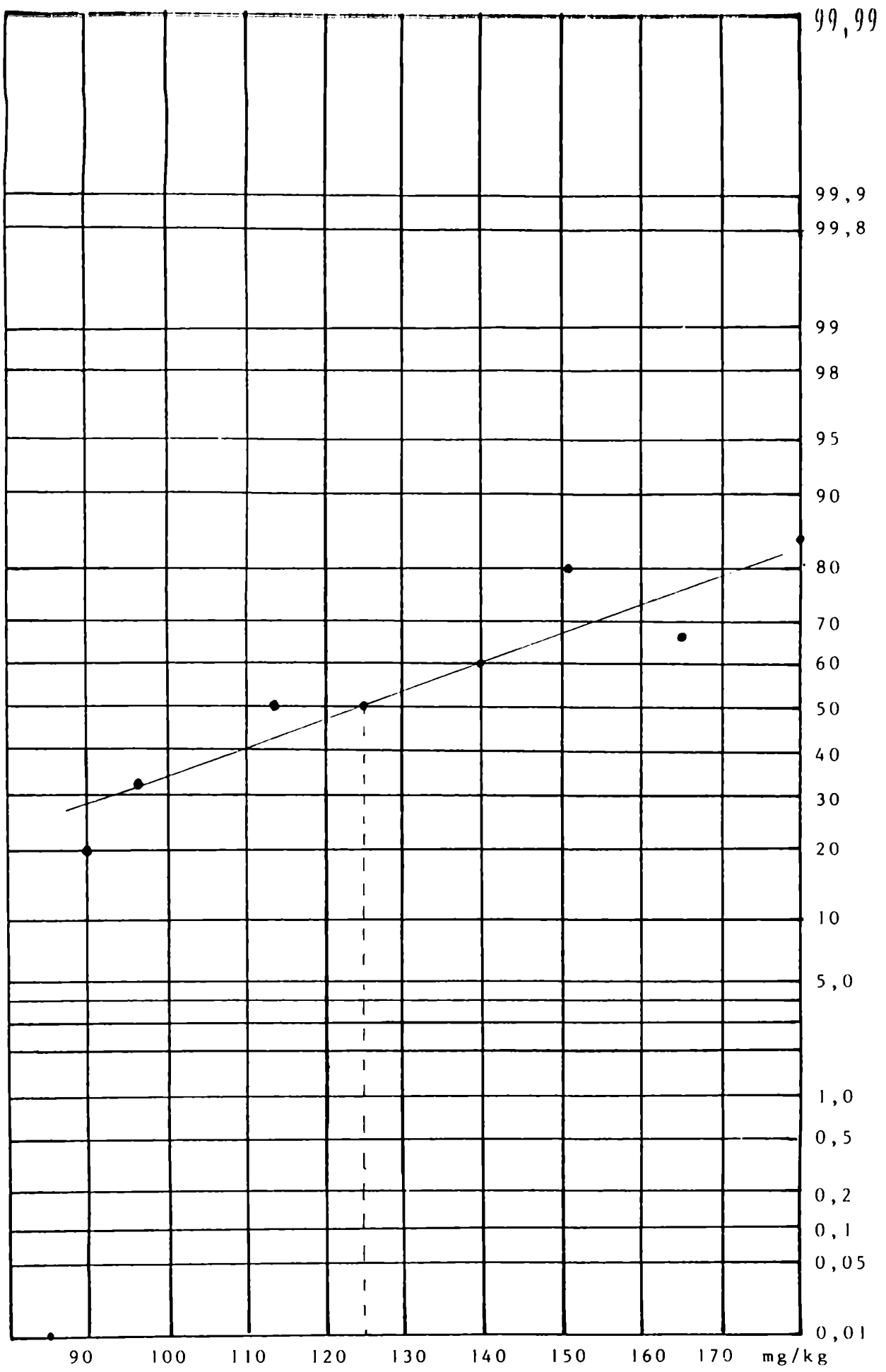


Figura 38. Dosis letal cincuenta del Mebrofenin

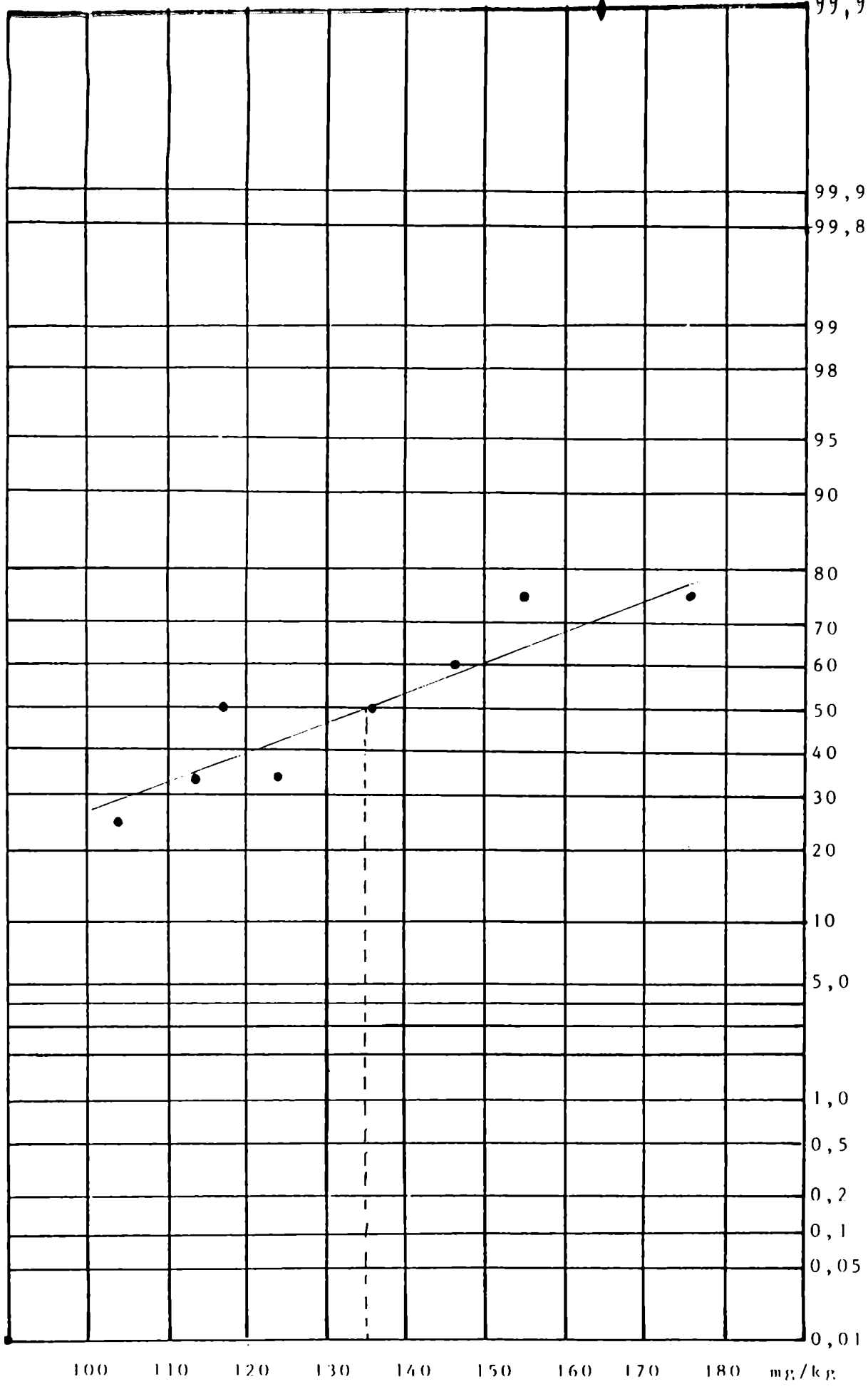


Figura 39. Dosis letal cincuenta del Iodofenin

DERIVADO	DL-50
HIDA 1	130 <sub>-</sub> 5,8
HIDA 2	150 <sub>-</sub> 6,3
HIDA 3	160 <sub>-</sub> 4,2
HIDA 4	72 <sub>-</sub> 2,4
HIDA 5	140 <sub>-</sub> 6,2
HIDA 6	78 <sub>-</sub> 1,0
HIDA 7	80 <sub>-</sub> 0,8
HIDA 10	80 <sub>-</sub> 6,5
MEBROFENIN	125 <sub>-</sub> 3,5
IODOFENIN	135 <sub>-</sub> 3,5

TABLA 22      DOSIS LETAL CINCUENTA DE LOS DISTINTOS DERIVADOS  
DEL ACIDO IMINODIACETICO

DERIVADO	FACTOR DE SEGURIDAD
HIDA 1	455
HIDA 2	525
HIDA 3	560
HIDA 4	252
HIDA 5	490
HIDA 6	273
HIDA 7	280
HIDA 10	280
MEBROFENIN	437
IODOFENIN	472

TABLA 23. FACTOR DE SEGURIDAD

### 5.2. Sustancias pirogénicas

En ninguna de las partidas de los distintos derivados utilizados sintetizadas en el laboratorio de Moléculas Marcadas se detectaron sustancias pirogénicas.

### 6. CINETICA PLASMATICA

De acuerdo a la metodología descrita se determinó la cinética plasmática de todos los derivados estudiados, estableciendo una circulación extracorpórea.

Los datos obtenidos fueron procesados mediante el programa de la tabla 2, determinándose los valores de los  $T_{1/2}$ .

Con los datos cargados en el disco se obtuvieron las curvas correspondientes (Figuras 40, 41, 42, 43, 44 y 45).

En las figuras 46, 47, 48, 49, 50 y 51 se observan las curvas correspondientes ajustadas tal como las graficó la computadora.

Los valores de  $T_{1/2}$  corto y  $T_{1/2}$  largo calculados se consiguen en la tabla 24, junto con los que se habían calculado, con anterioridad, para el resto de los derivados.

### 7. BIODISTRIBUCION

Como se consignó en Materiales y Métodos, con los datos obtenidos de la biodistribución, o sea los porcentajes de radiactividad con respecto a la dosis inyectada en cada uno de los órganos en estudio se construyeron las curvas de porcentaje de dosis inyectada versus el tiempo ( Figuras 52 al 62).

Uno de los parámetros destacables es el tiempo de máxima actividad o captación en vesícula biliar, que nos permite la comparación entre los distintos derivados estudiados, estos datos se presentan en la tabla 25.

Además para una mejor visualización se han graficado en figuras aparte la limpieza hepática (%dosis inyectada en hígado versus tiempo) y la excreción renal (%dosis inyectada en riñones+orina versus tiempo) (Figuras 63 al 73).

Por su similitud se compararon el Hida 3 y el 5 y el Hida 4 y el 6. Para ello se tomaron dos parámetros: la captación hepática y el pasaje a vesícula biliar, por lo cual se compararon los valores en hígado a dos tiempos representativos: 5 y 30 minutos y se evaluaron mediante la prueba del t pareado con un nivel de significación del 0,05. Se consideró además la excreción urinaria a un tiempo suficientemente largo: 120 minutos (Tabla 26).

### 8. RUTAS METABOLICAS

Con la administración de alícuotas de orina o bilis obtenidas, tal como se indicó en Materiales y Métodos, se puede inferir el camino de los distintos compuestos estudiados y su posible metabolización. Este procedimiento se aplicó al

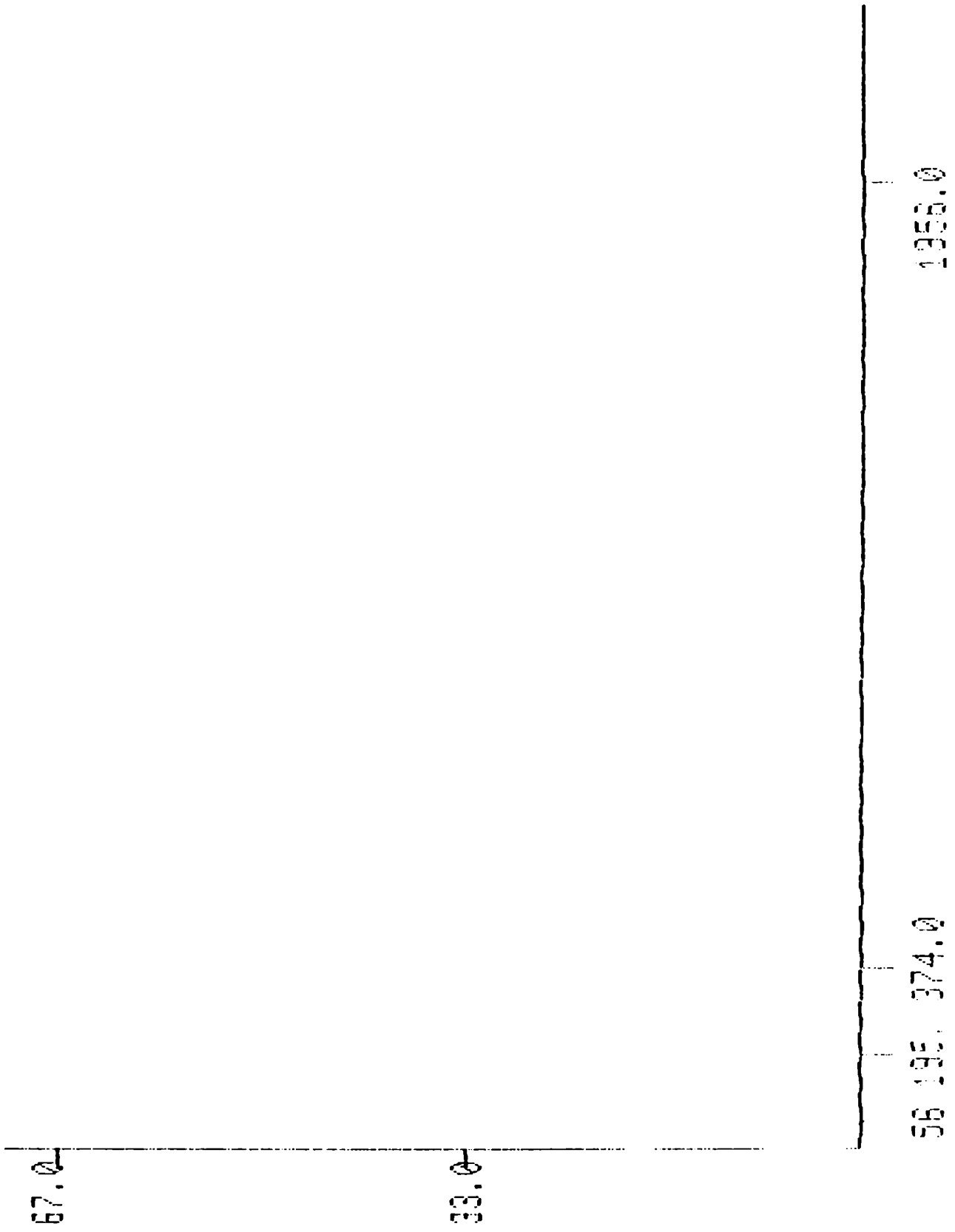
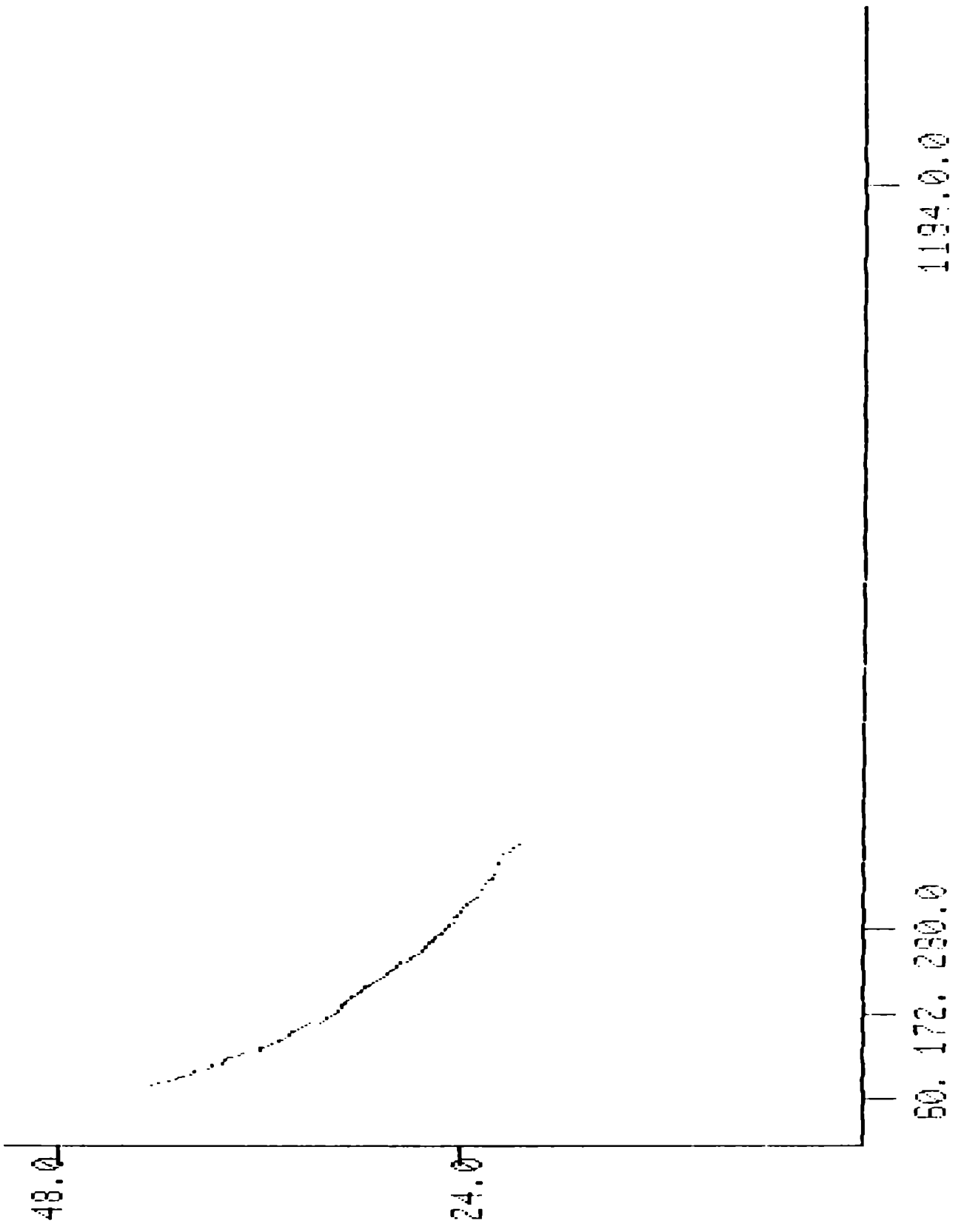
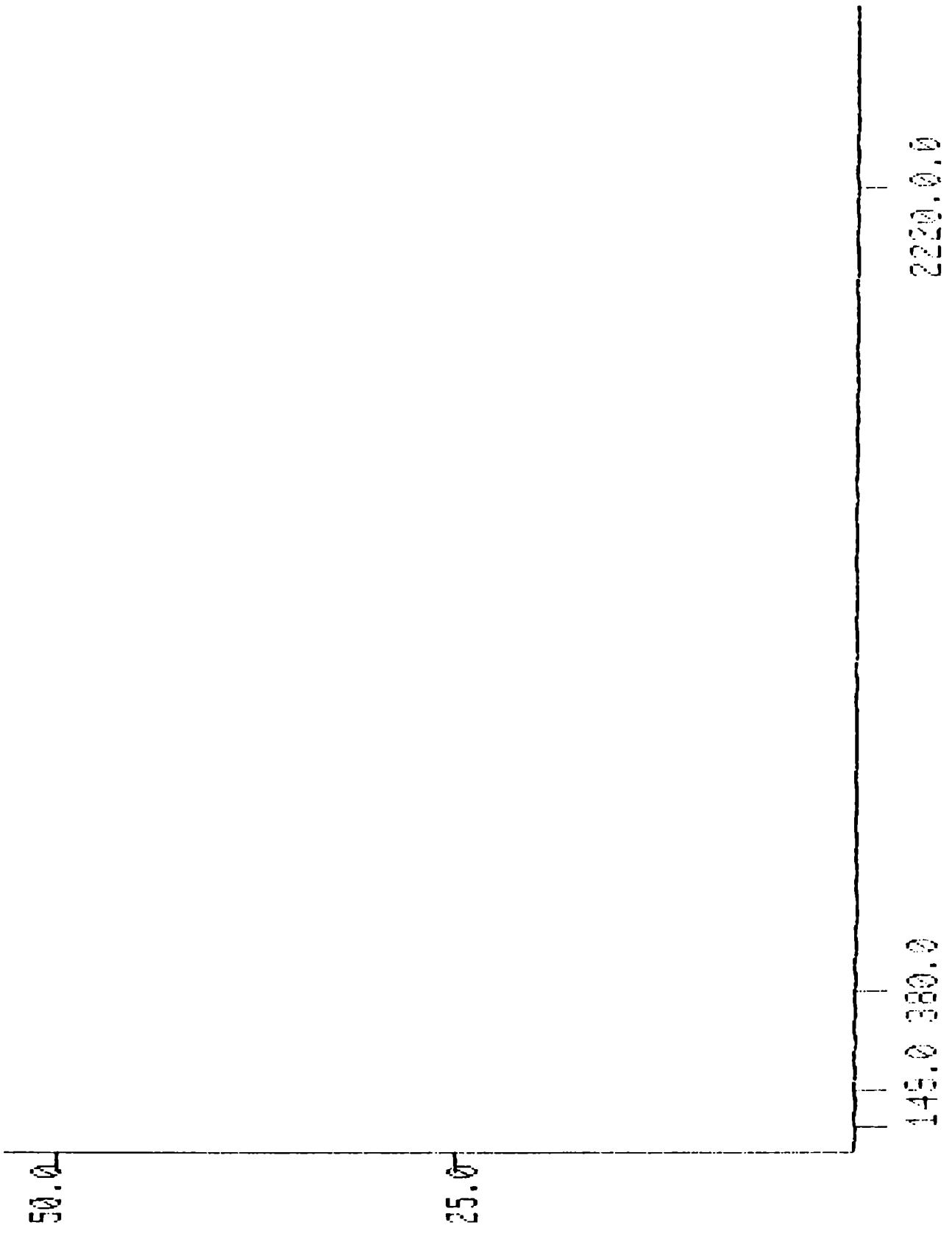


Figura -0-. Cinética plasmática del Hida 6







24.0

---

12.0



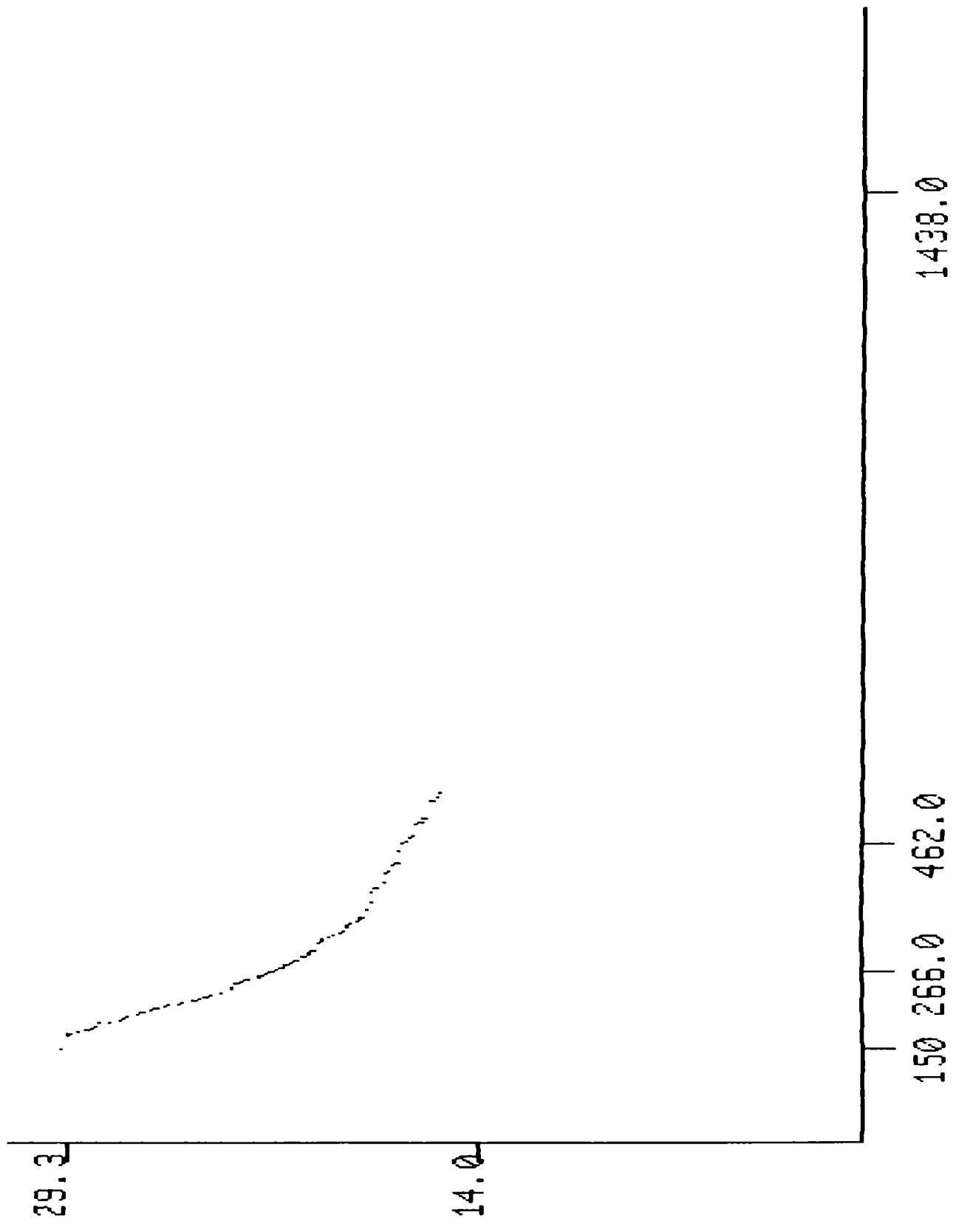


Figura 45. Cinética plasmática del Iodo-diethyl-IDA

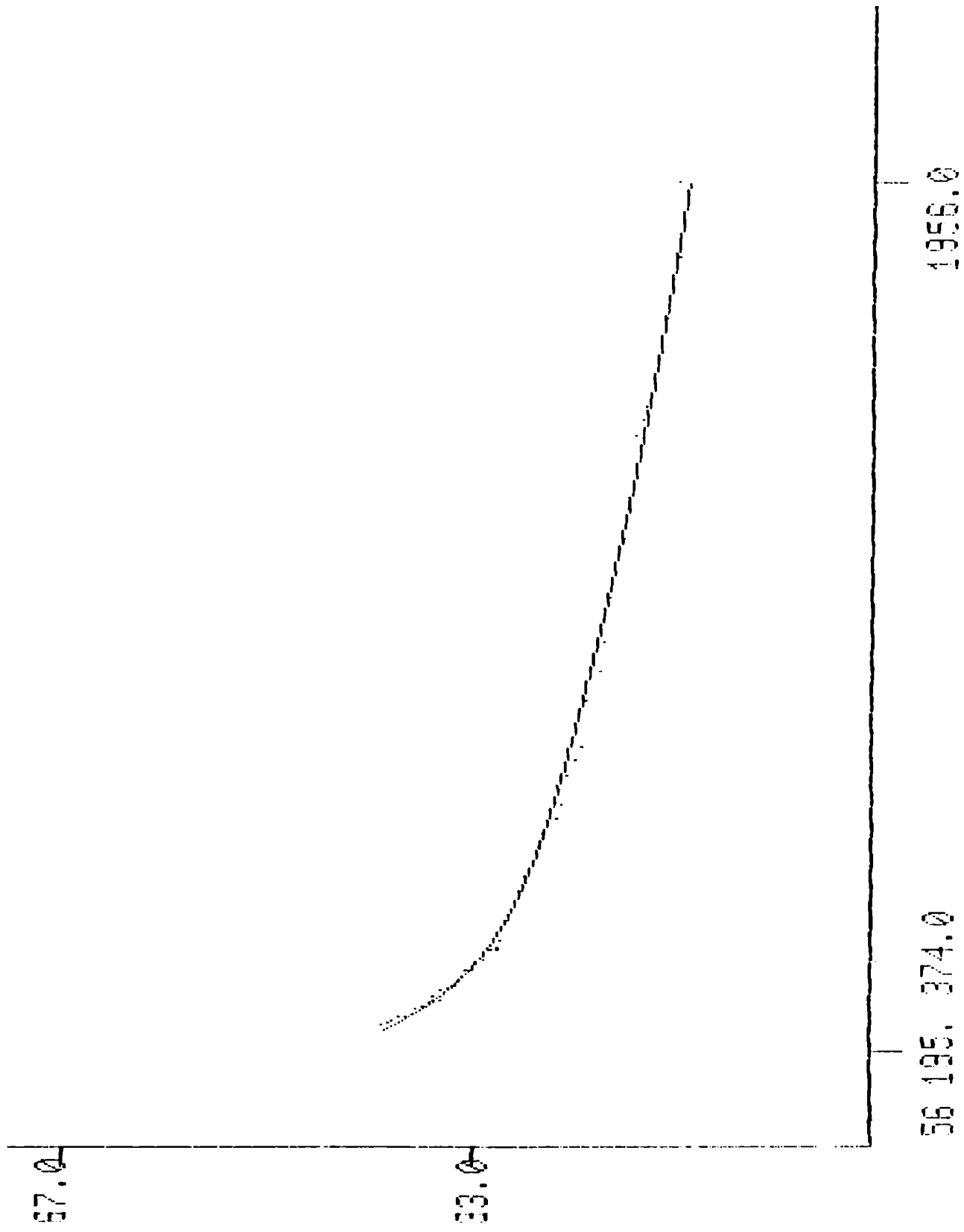


Figura 46. Curva ajustada del Hida 6

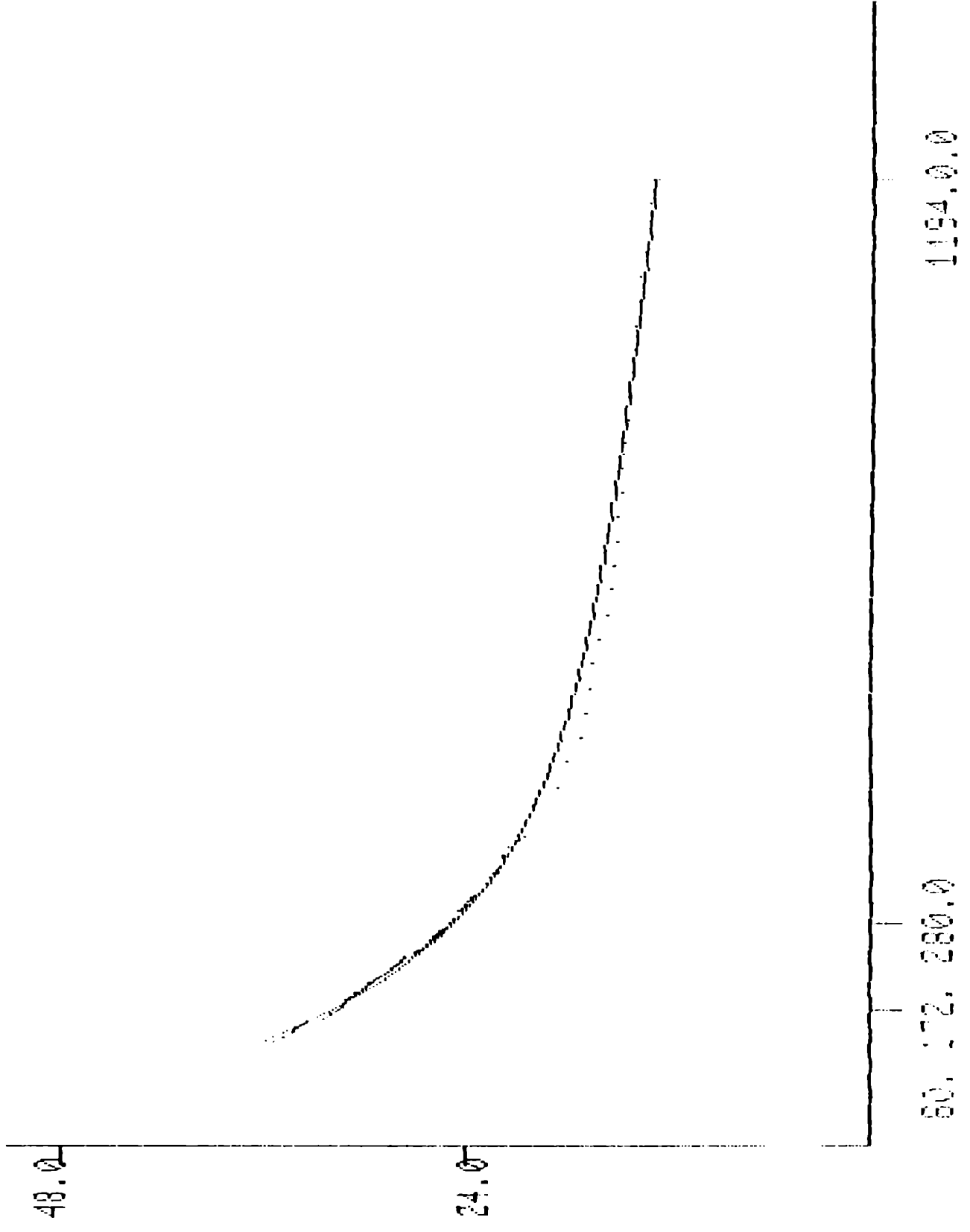


Figura -7. Curva ajustada del Hida 7

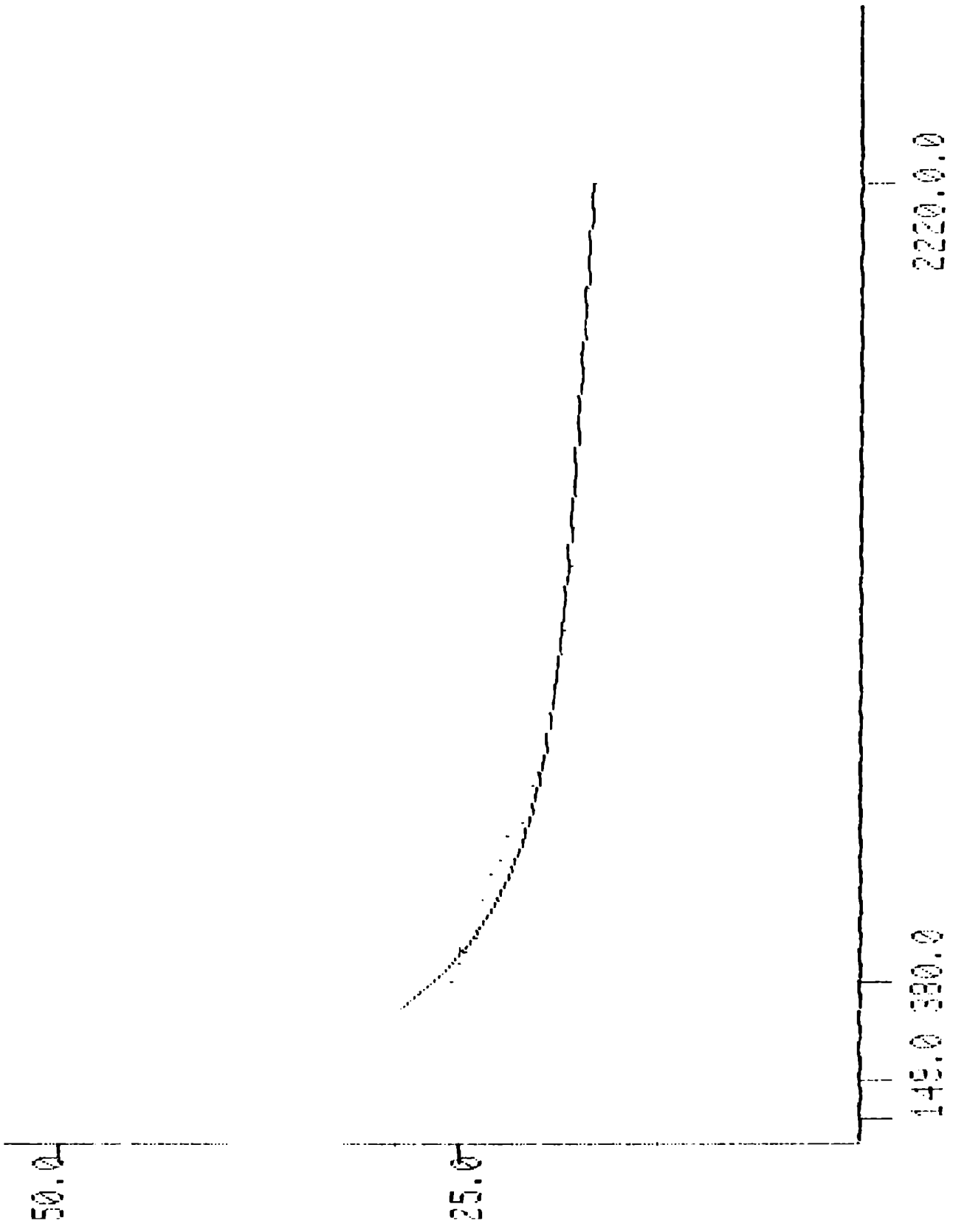


Figura 48 . Curva ajustada del Hida 10

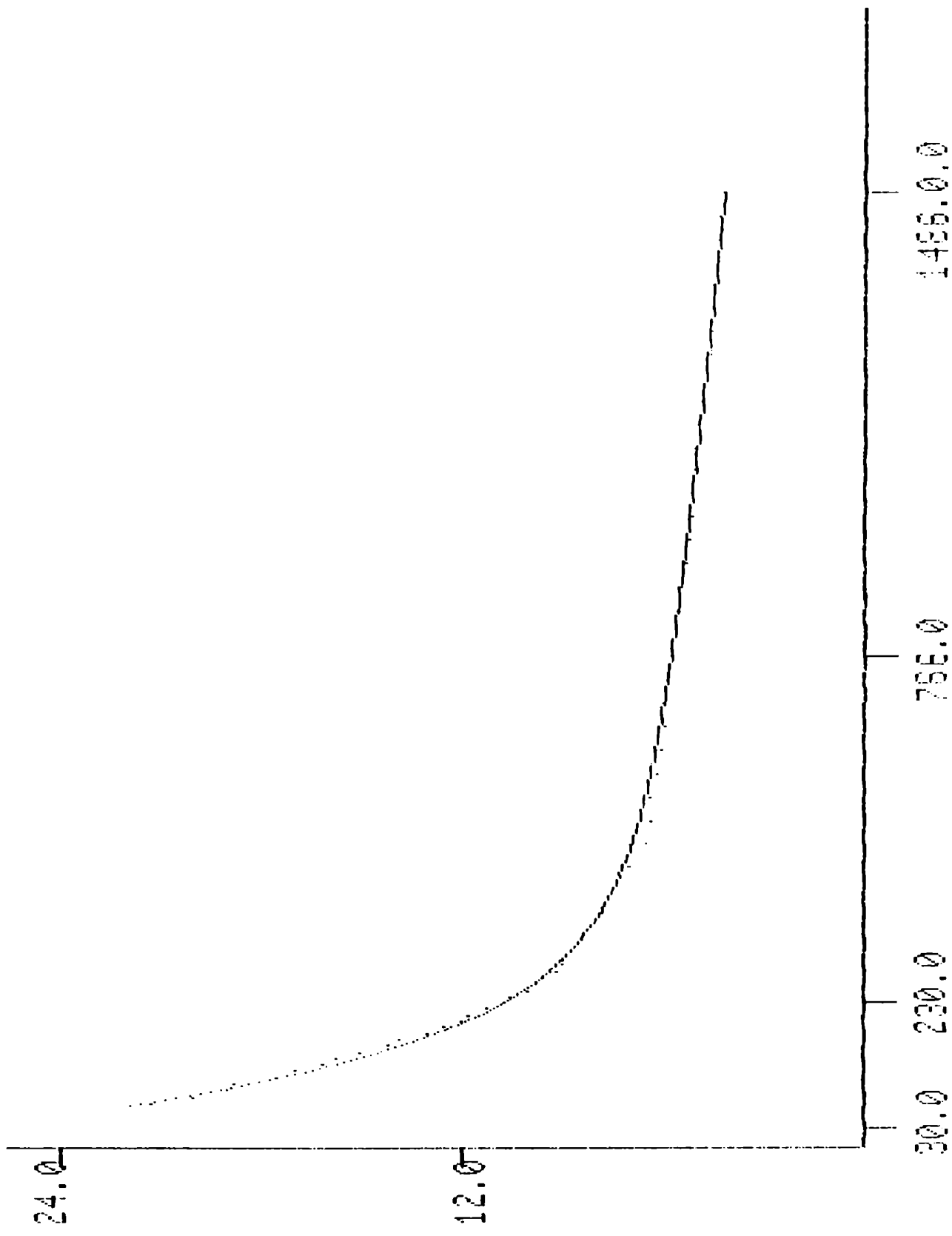


Figura 49 . Curva ajustada del Mebrofenin

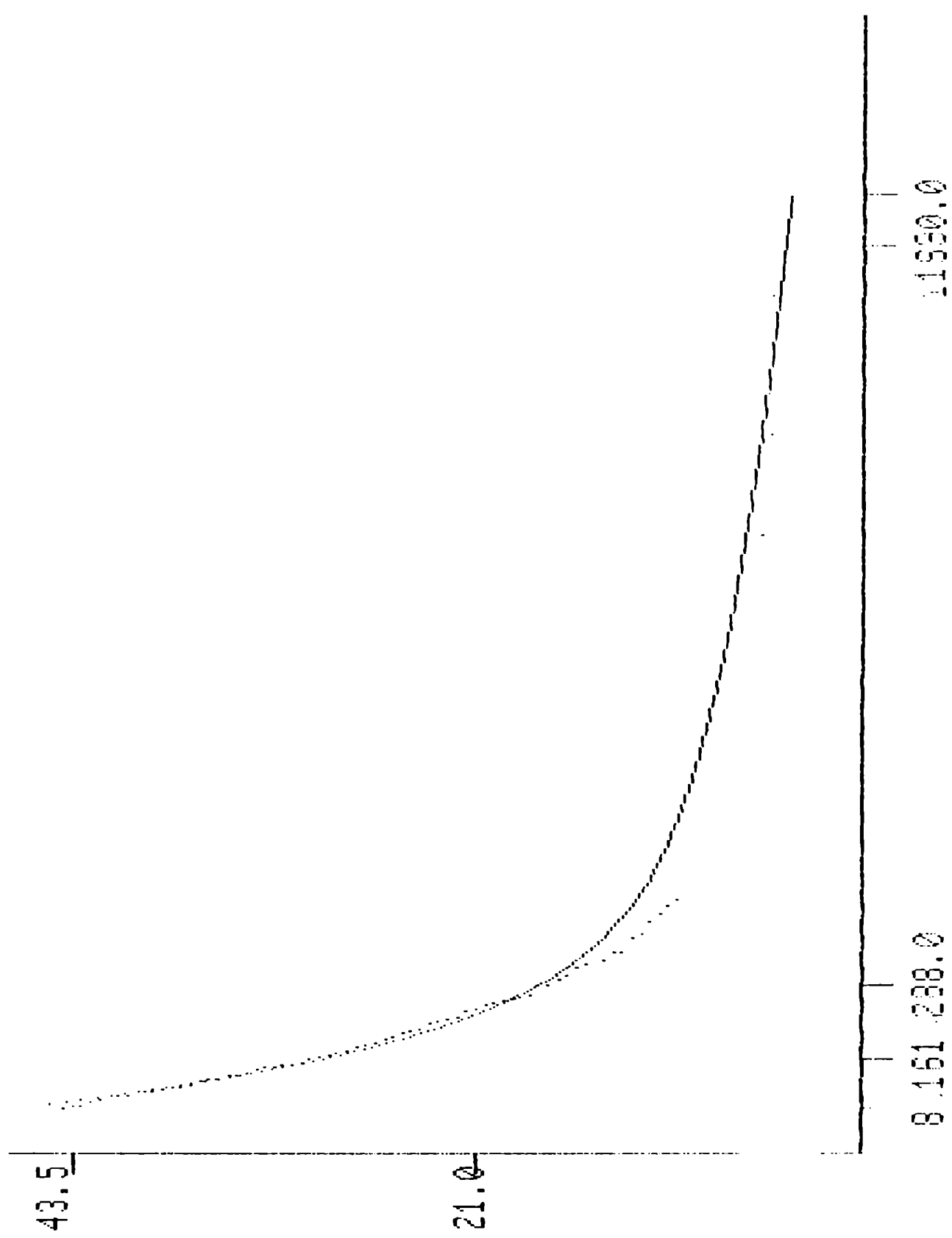


Figura 50. Curva ajustada del Iodofenin



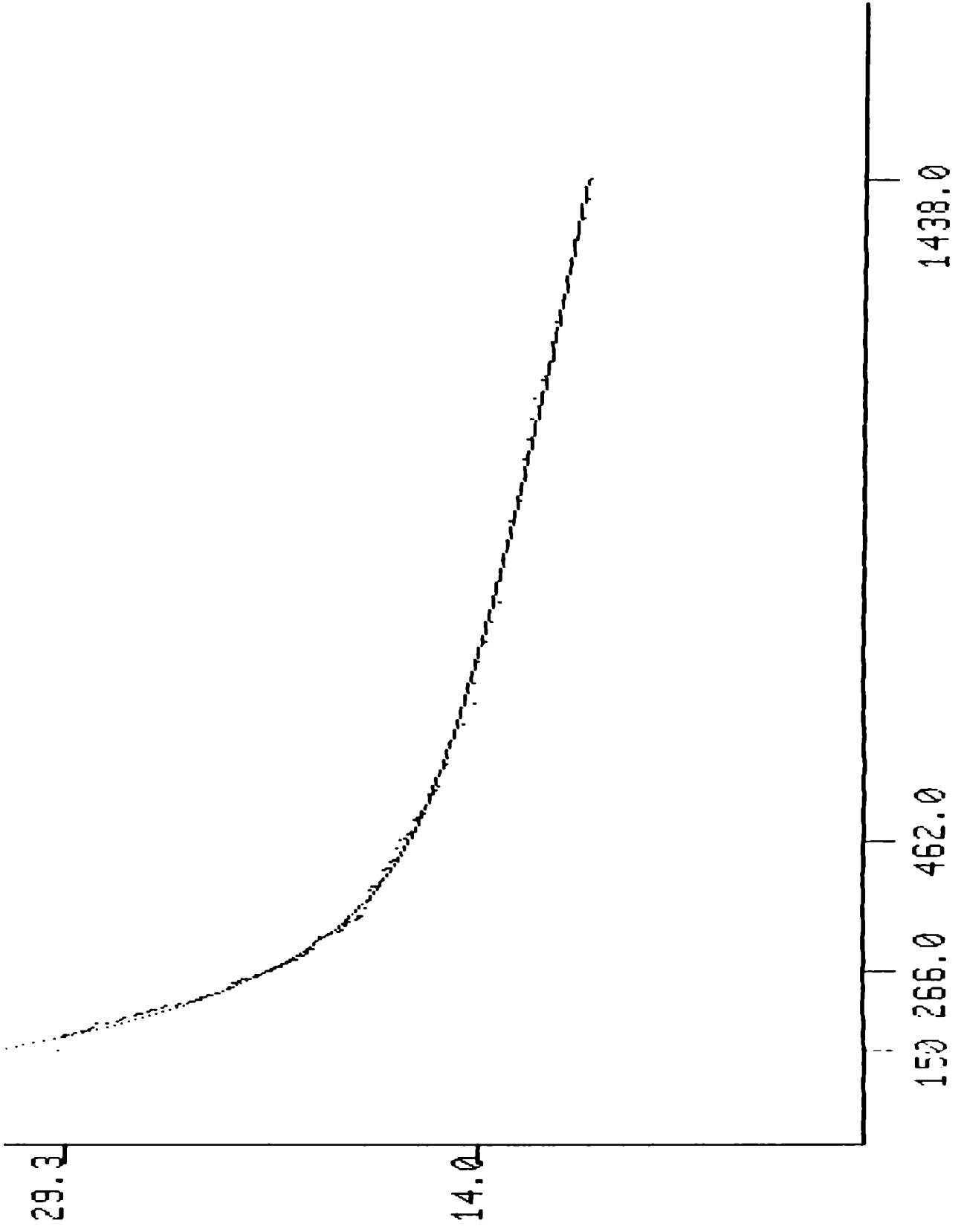


Figura 51. Curva ajustada del Iodo-diethyl-IDA

DERIVADO	T $\frac{1}{2}$ CORTO	T $\frac{1}{2}$ LARGO
HIDA 1	1,2	23
HIDA 2	1,2	28
HIDA 3	1,3	21
HIDA 4	1,4	20
HIDA 5	1,3	25
HIDA 6	1,3	27
HIDA 7	1,7	27
HIDA 10	2,8	118
MEBROFENIN	1,3	26
IODOFENIN	1,4	15
IODODIETILIDA	1,2	25

TABLA 24. COMPONENTES DE LA CINETICA PLASMATICA DE  
LOS DISTINTOS DERIVADOS

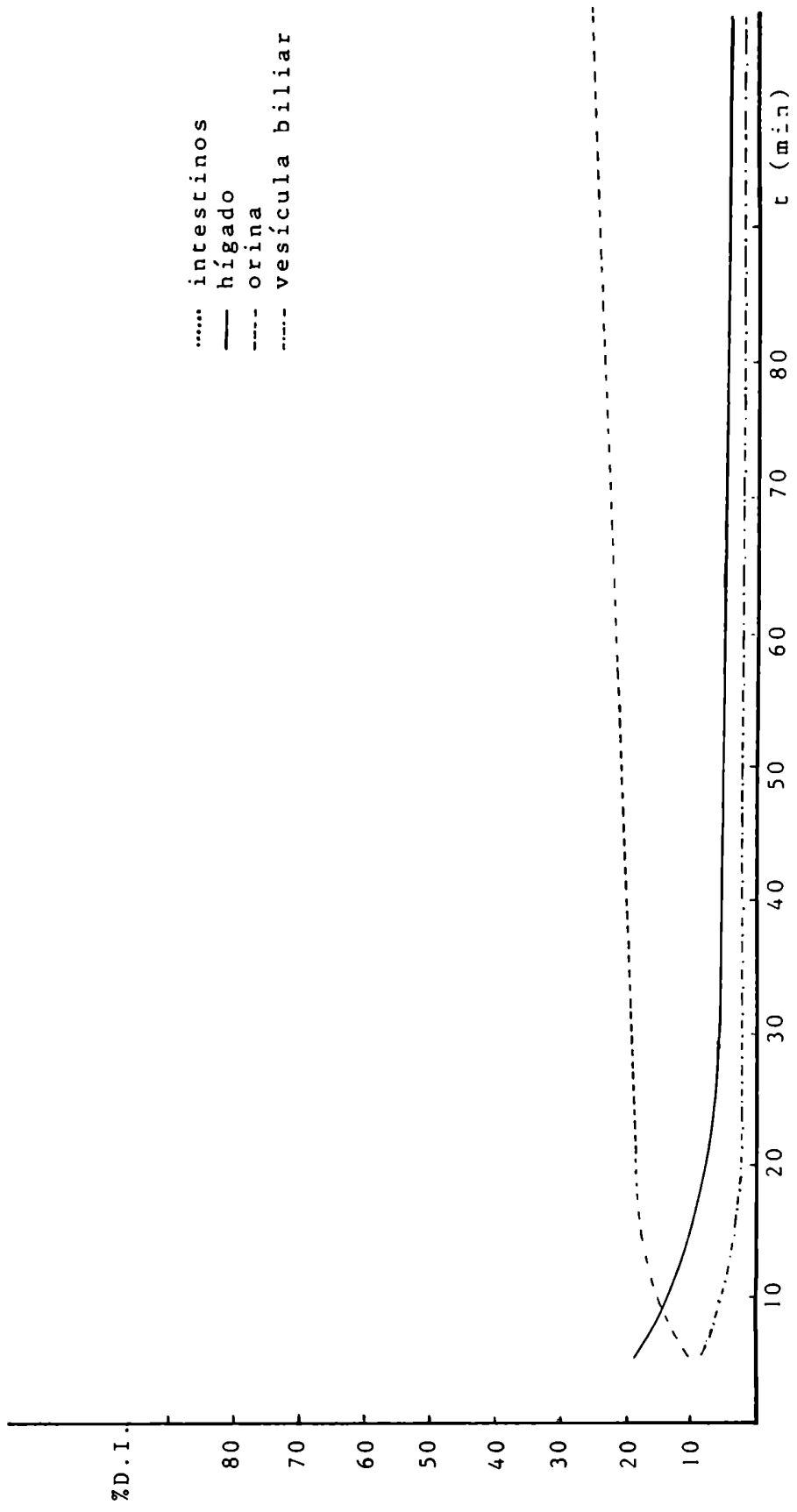


Figura 52. CINÉTICA DEL HIDA I

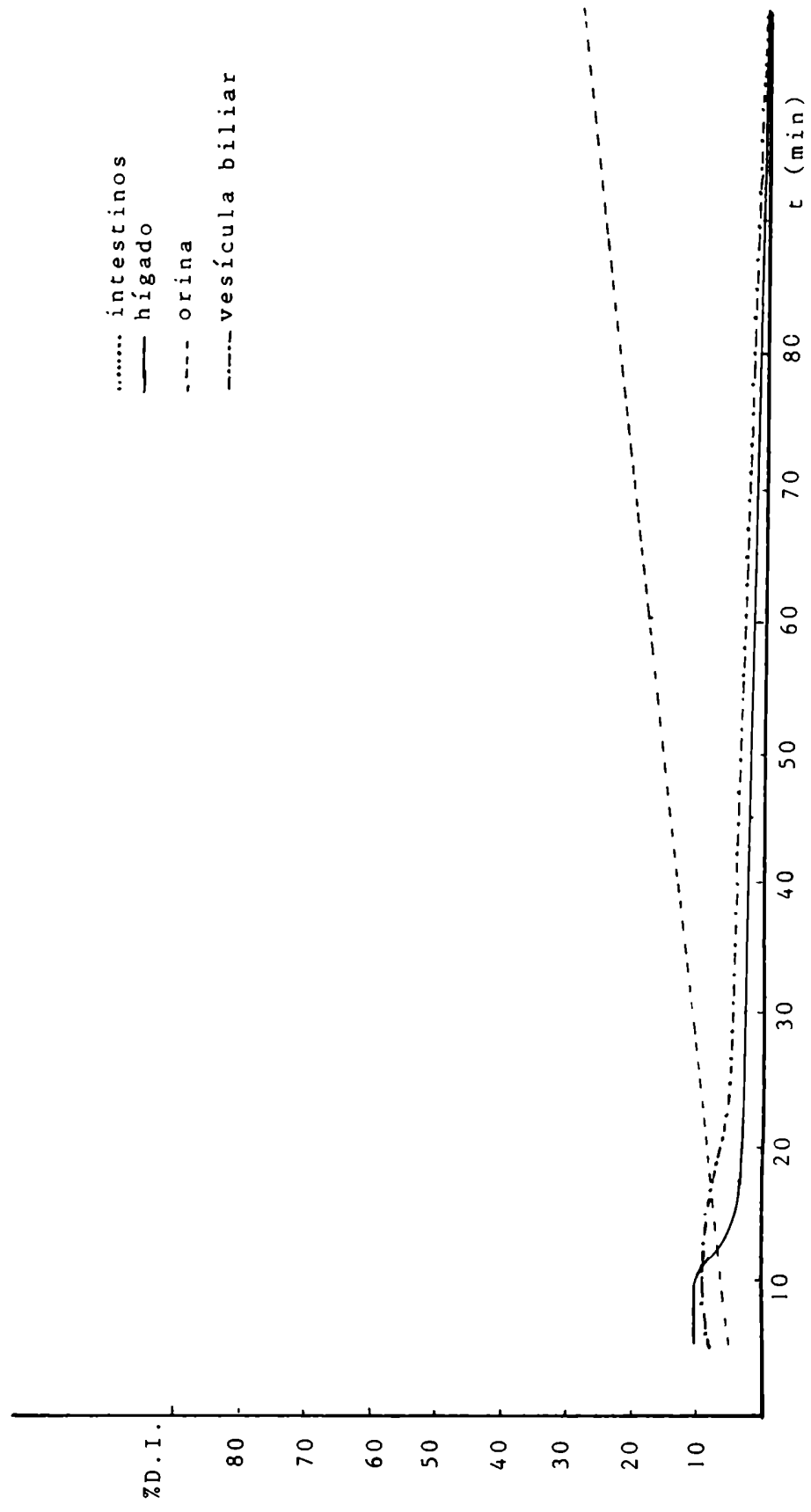


Figura 53. CINÉTICA DEL HIDA 2

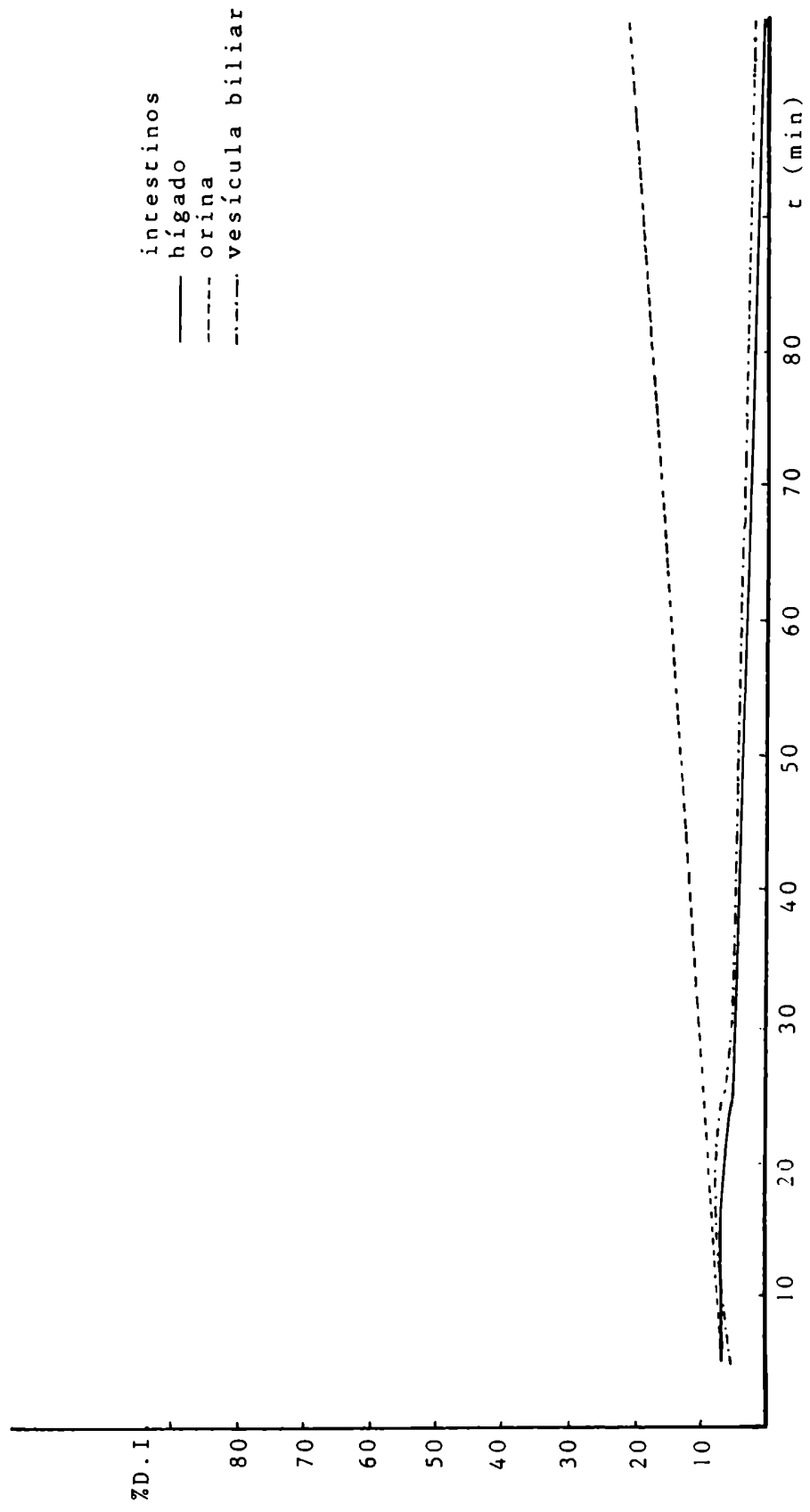


Figura 54 CINÉTICA DEL HIDA 3

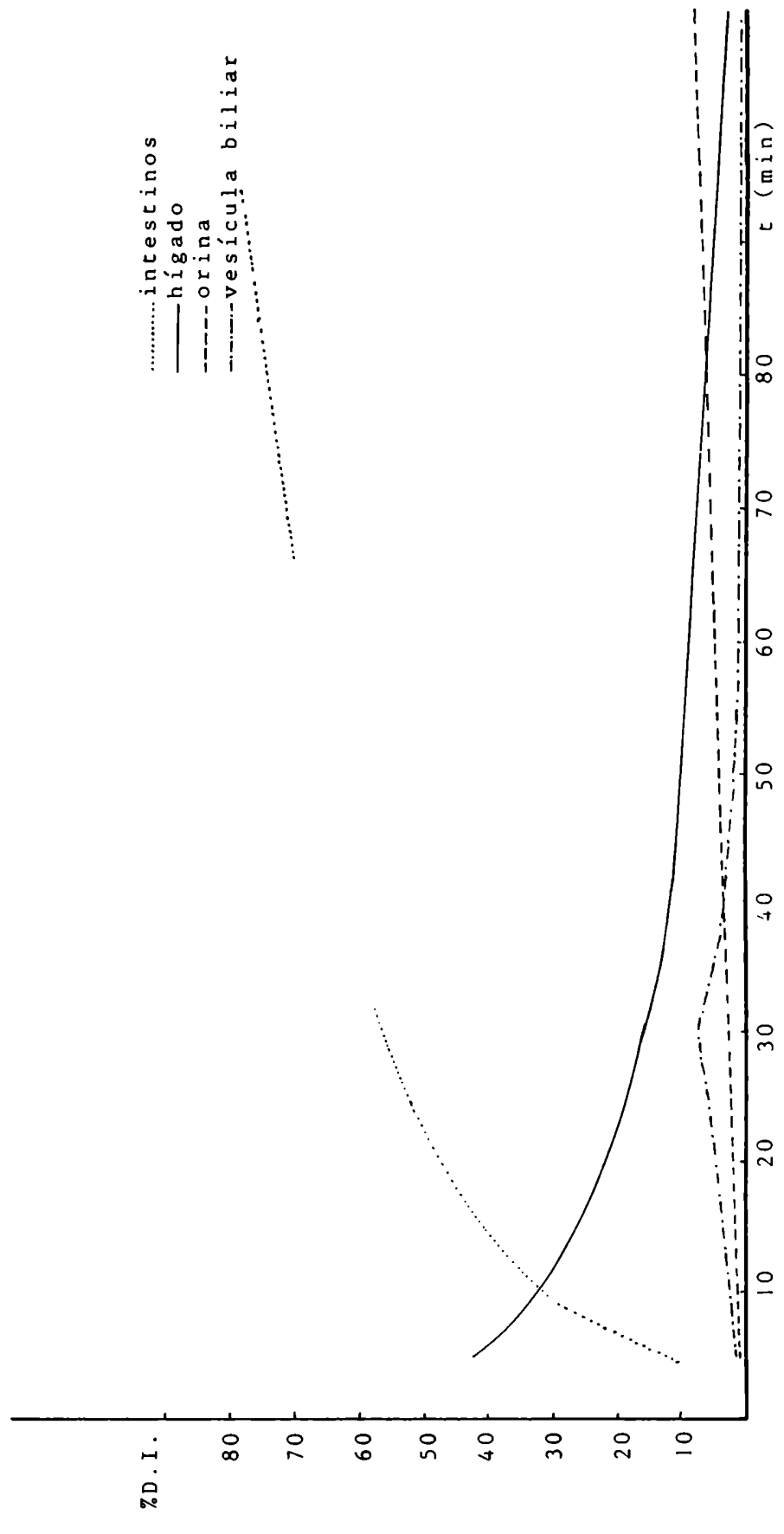


Figura 55. CINETICA DEL HIDA 4

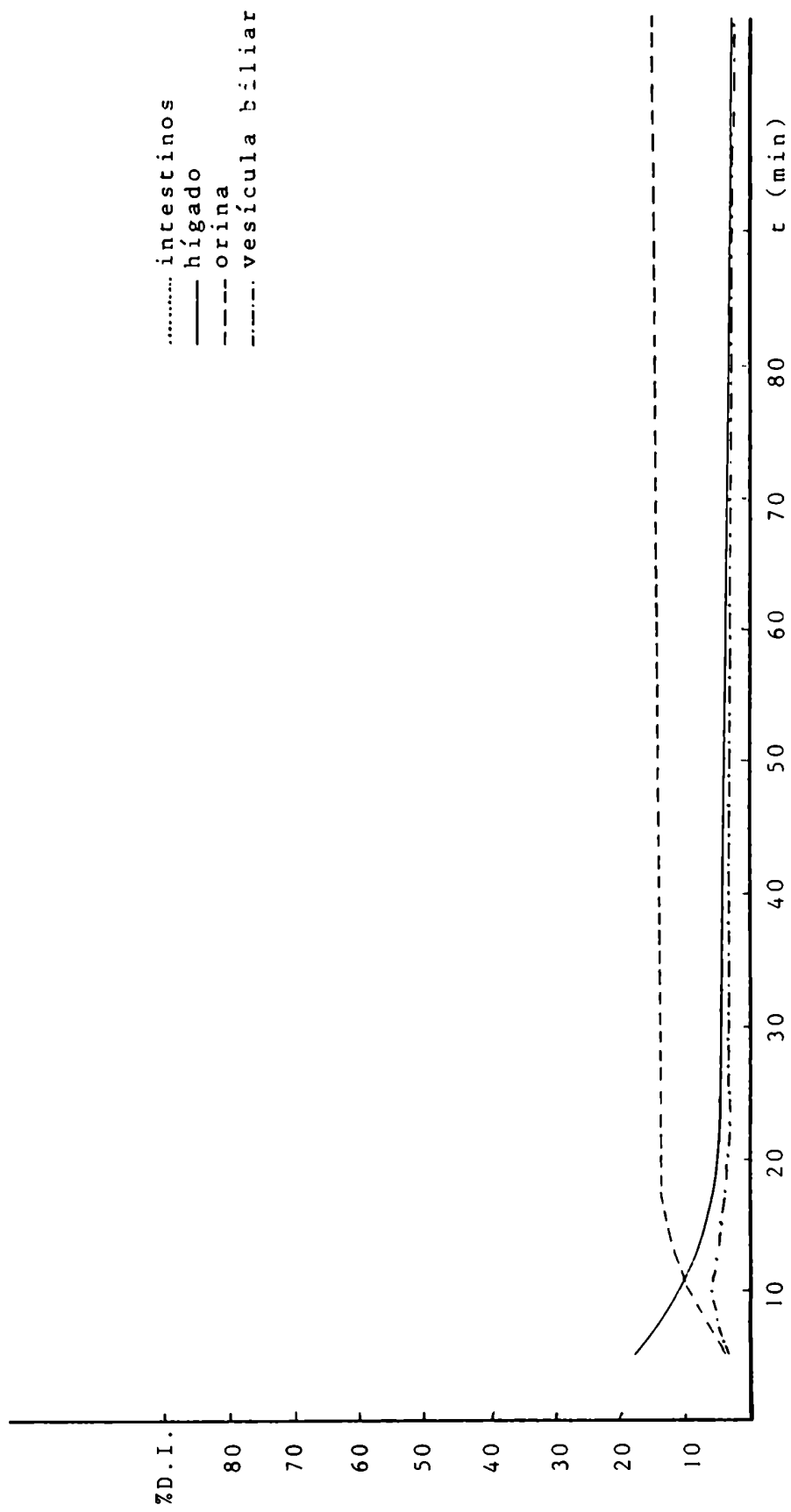


Figura 56. CIENTIFICA DEL HIDA 5

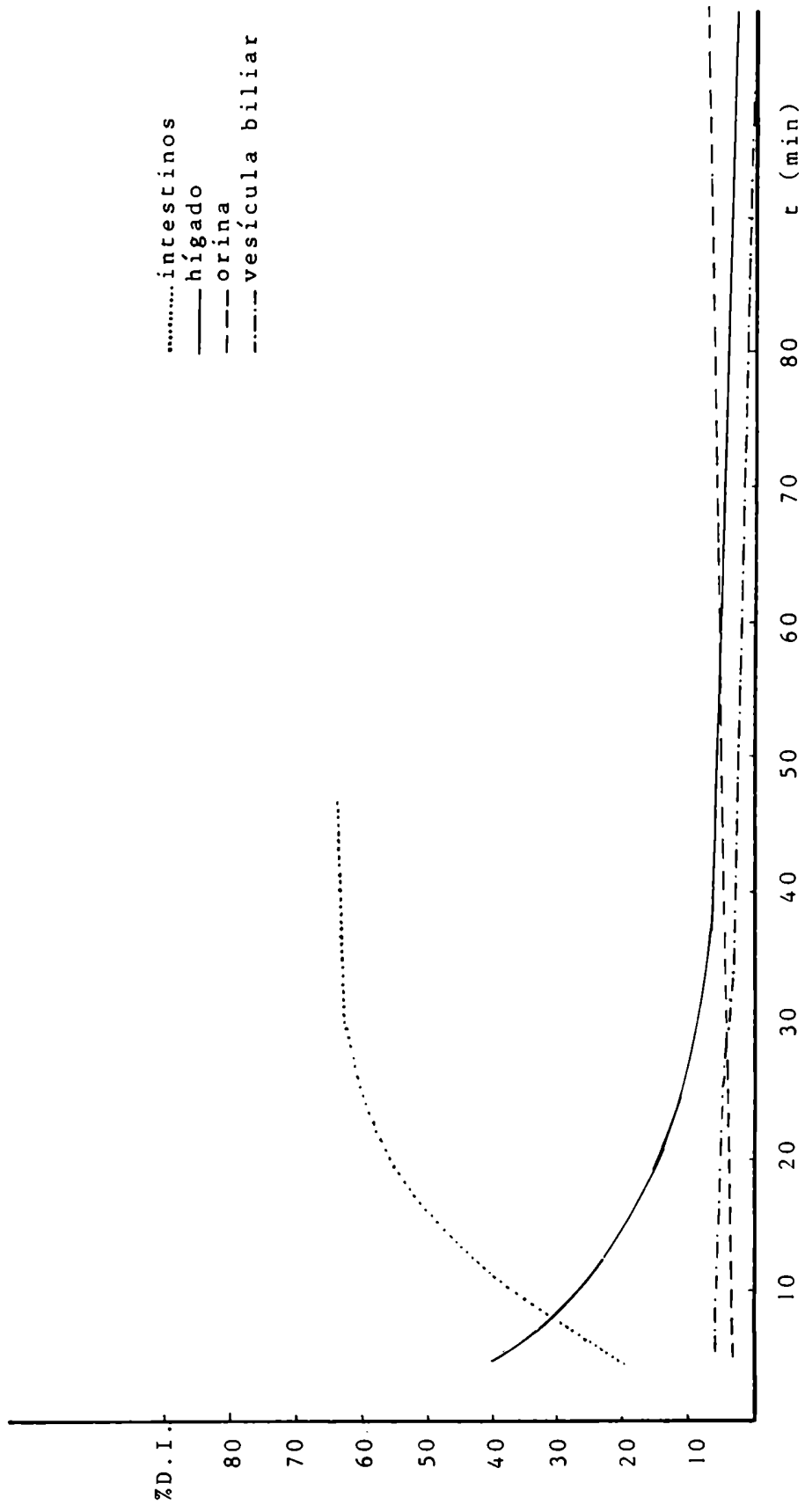


Figura 57 . CINÉTICA DEL HIDA 6



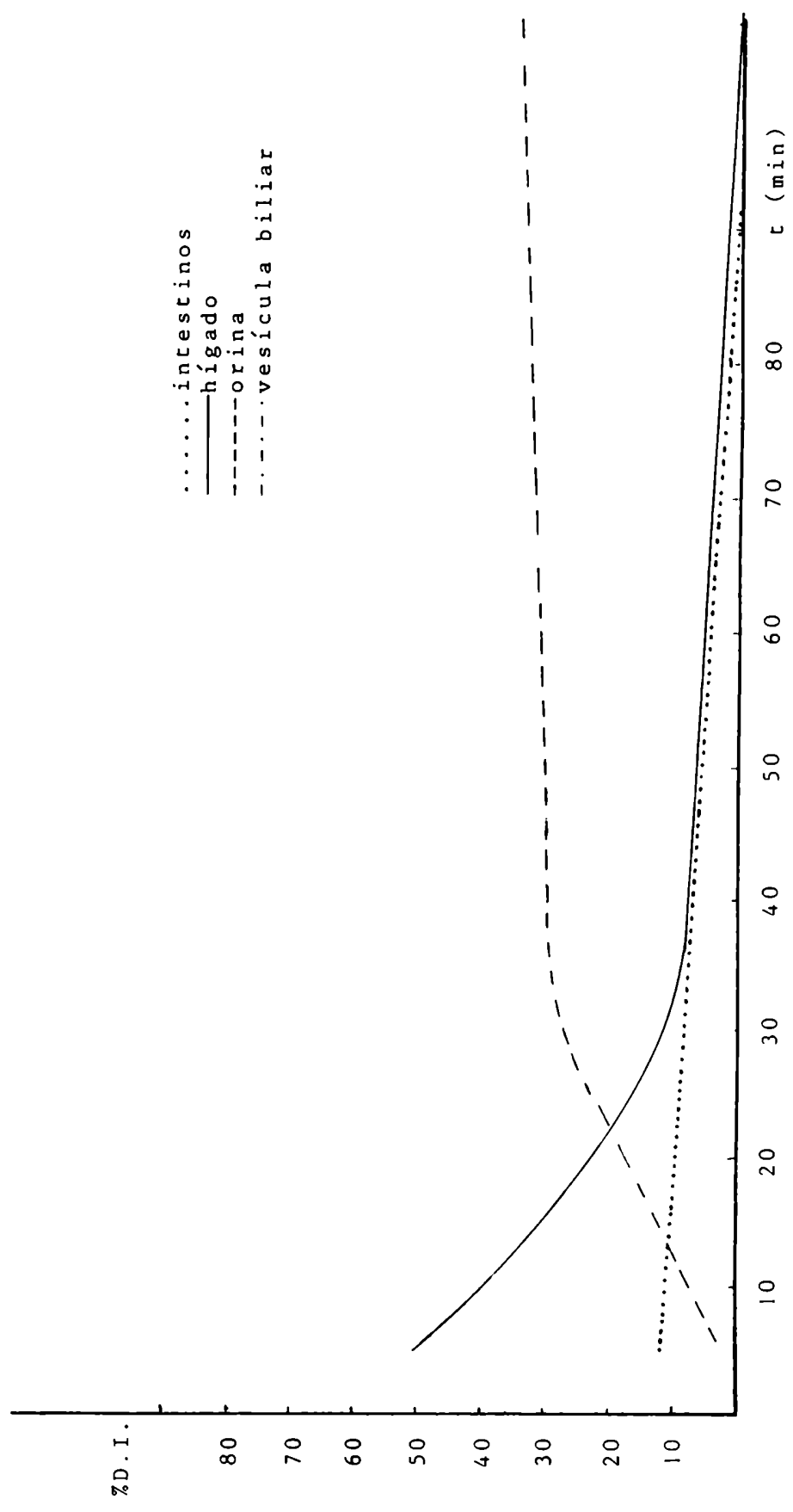


Figura 58. CINÉTICA DEL HIDA 7

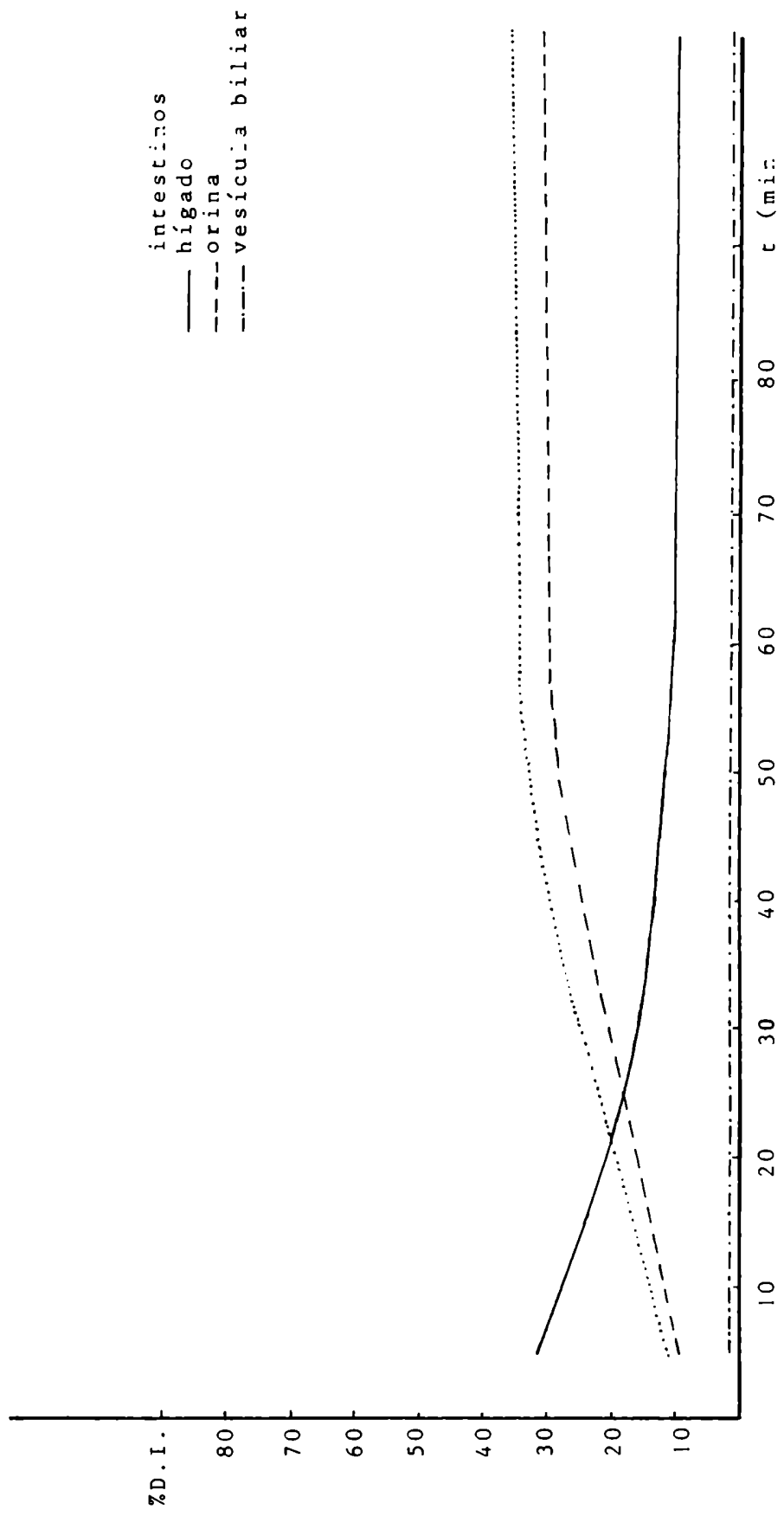


Figura 59. CINETICA DEL HIDA 10

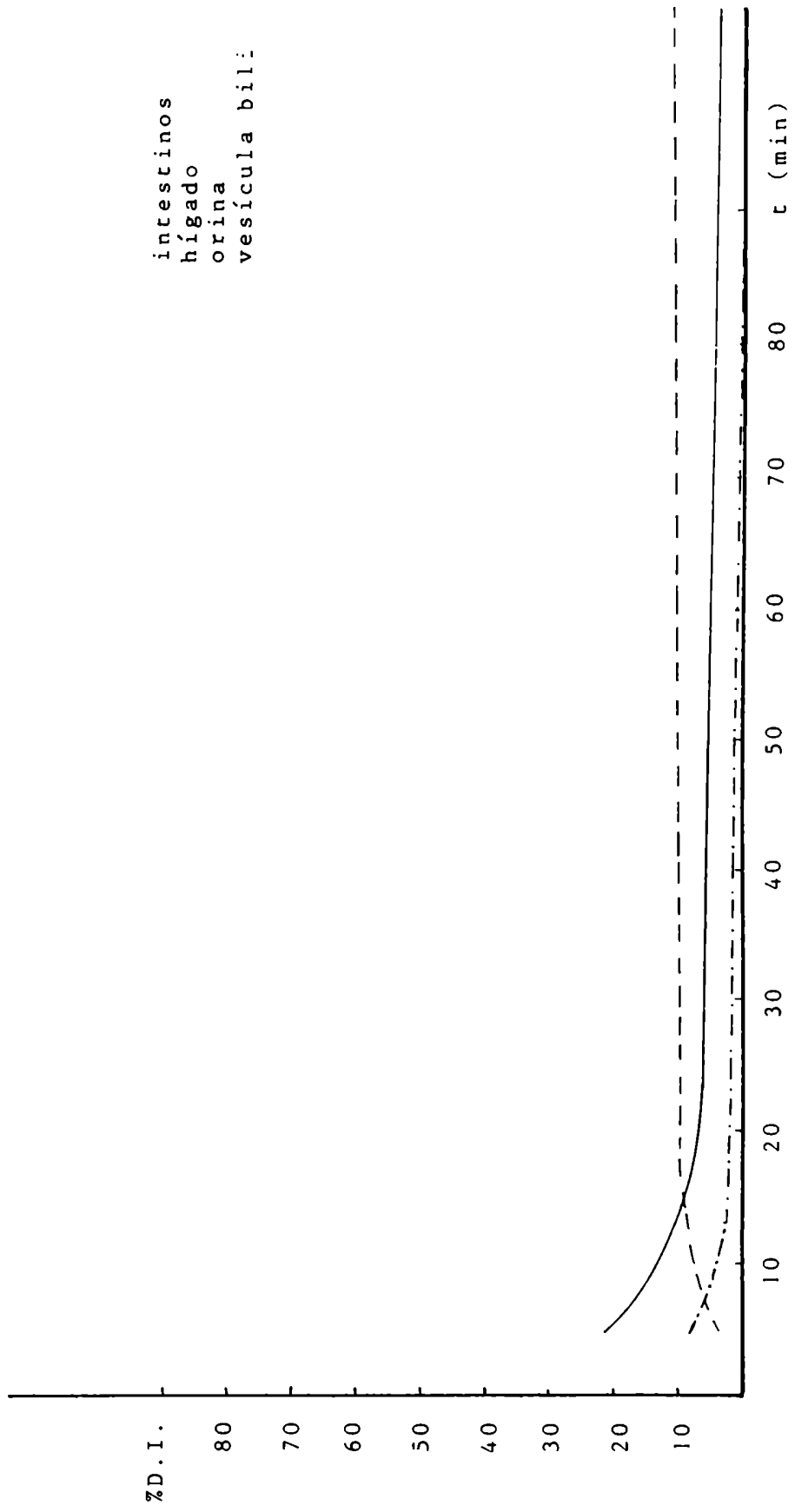


Figura 60. CIENTIFICA DEL MEBROFENIN

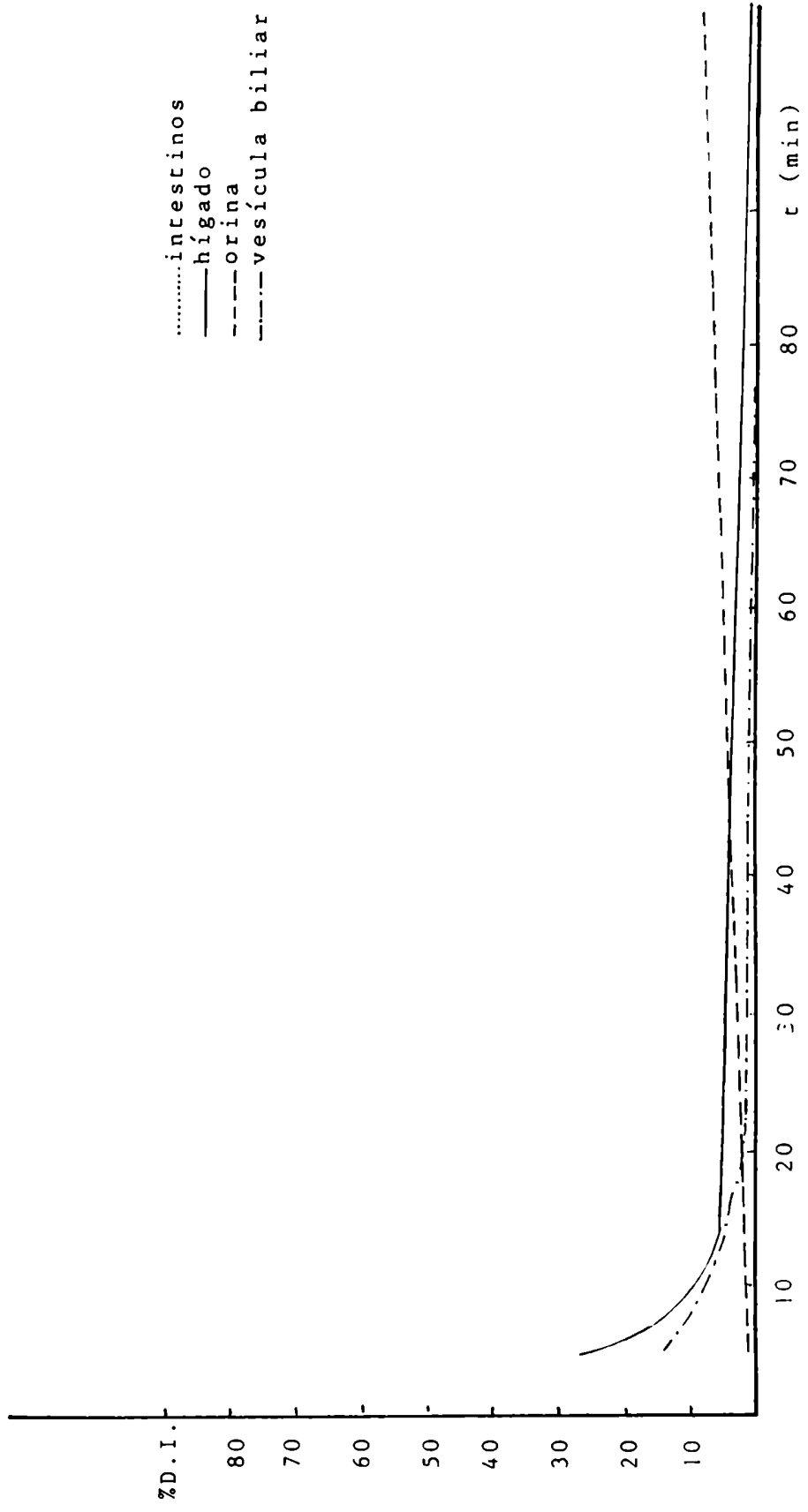


Figura 6'. CIÉNTICA DE IODOFENIN

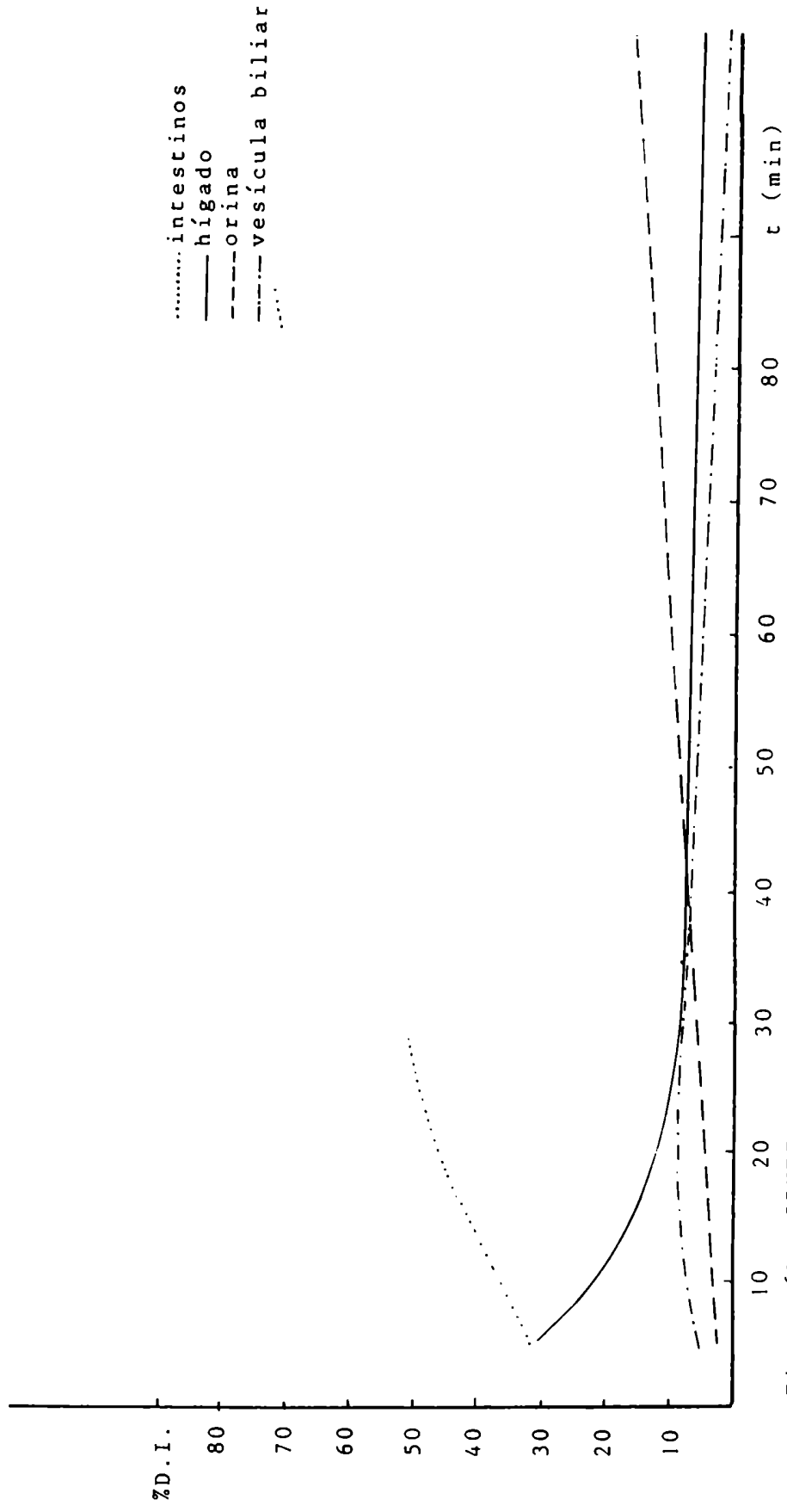


Figura 62. CINÉTICA DEL I-DIETIL-IDA

N-DERIVADO	TIEMPO DE MAXIMA CAPTACION EN V.B. (min)
HIDA 1	5
HIDA 2	10
HIDA 3	15
HIDA 4	30
HIDA 5	15
HIDA 6	15
HIDA 7	no transita por vesícula biliar
HIDA 10	no presenta máximo notable
Mebrofenin	5
Iodofenin	5
Iodo-dietil	10

TABLA 25. TIEMPO DE MAXIMA CAPTACION EN VESICULA BILIAR

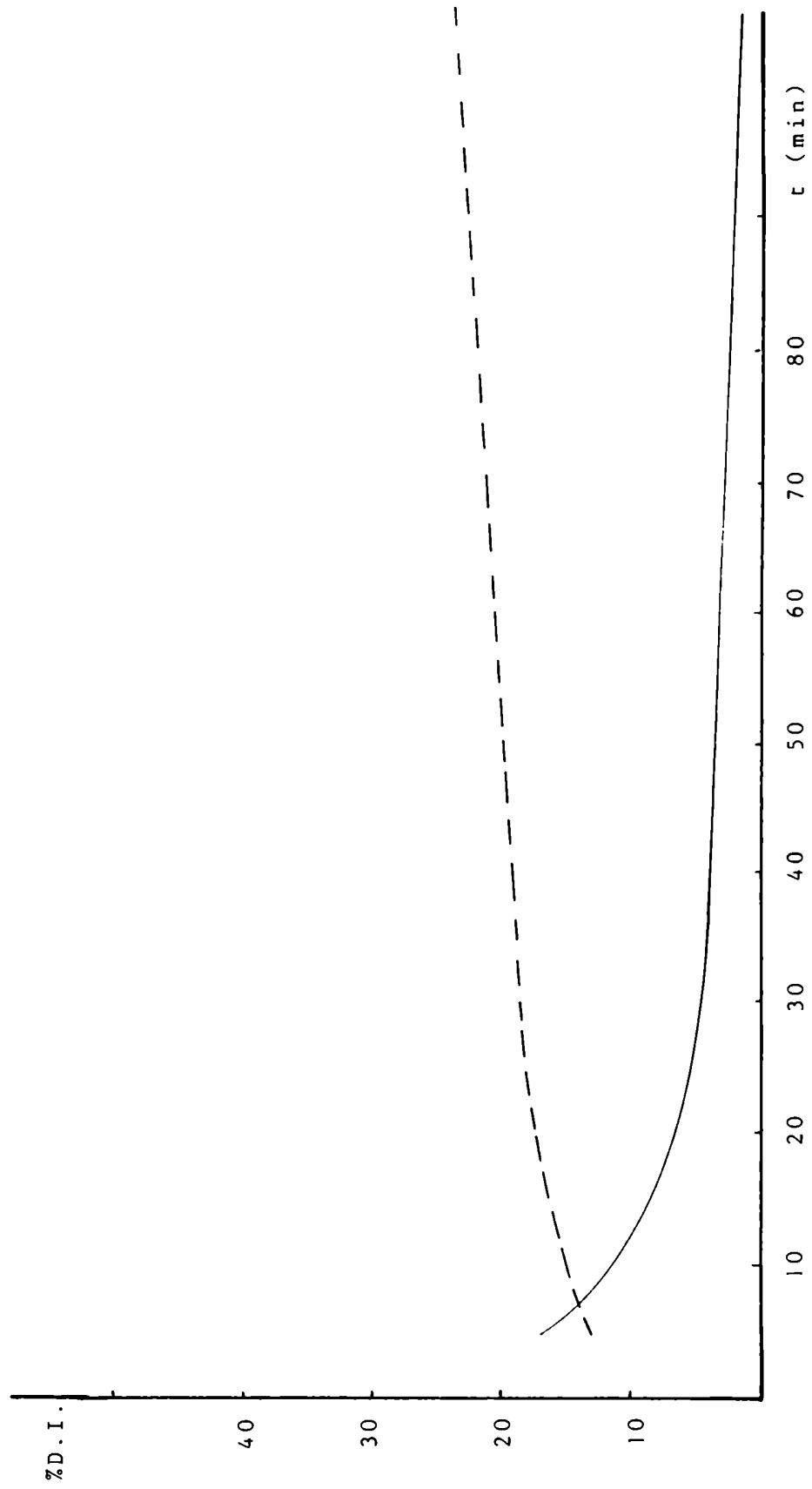


Figura 63. HIDA 1: LIMPIEZA HEPATICA Y EXCRECION RENAL

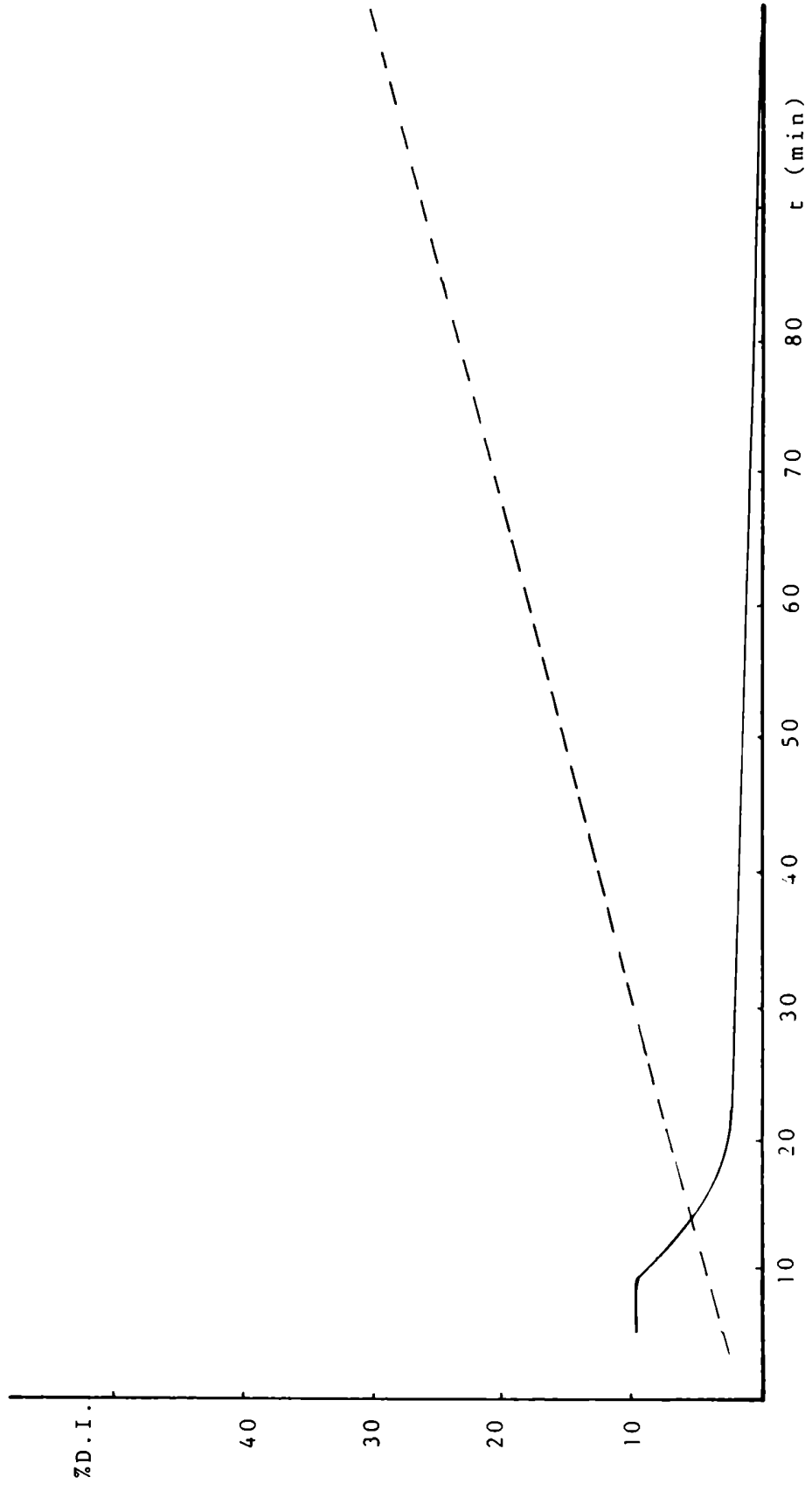


Figura 64. HIDA 2: LIMPIEZA HEPÁTICA Y EXCRECIÓN RENAL



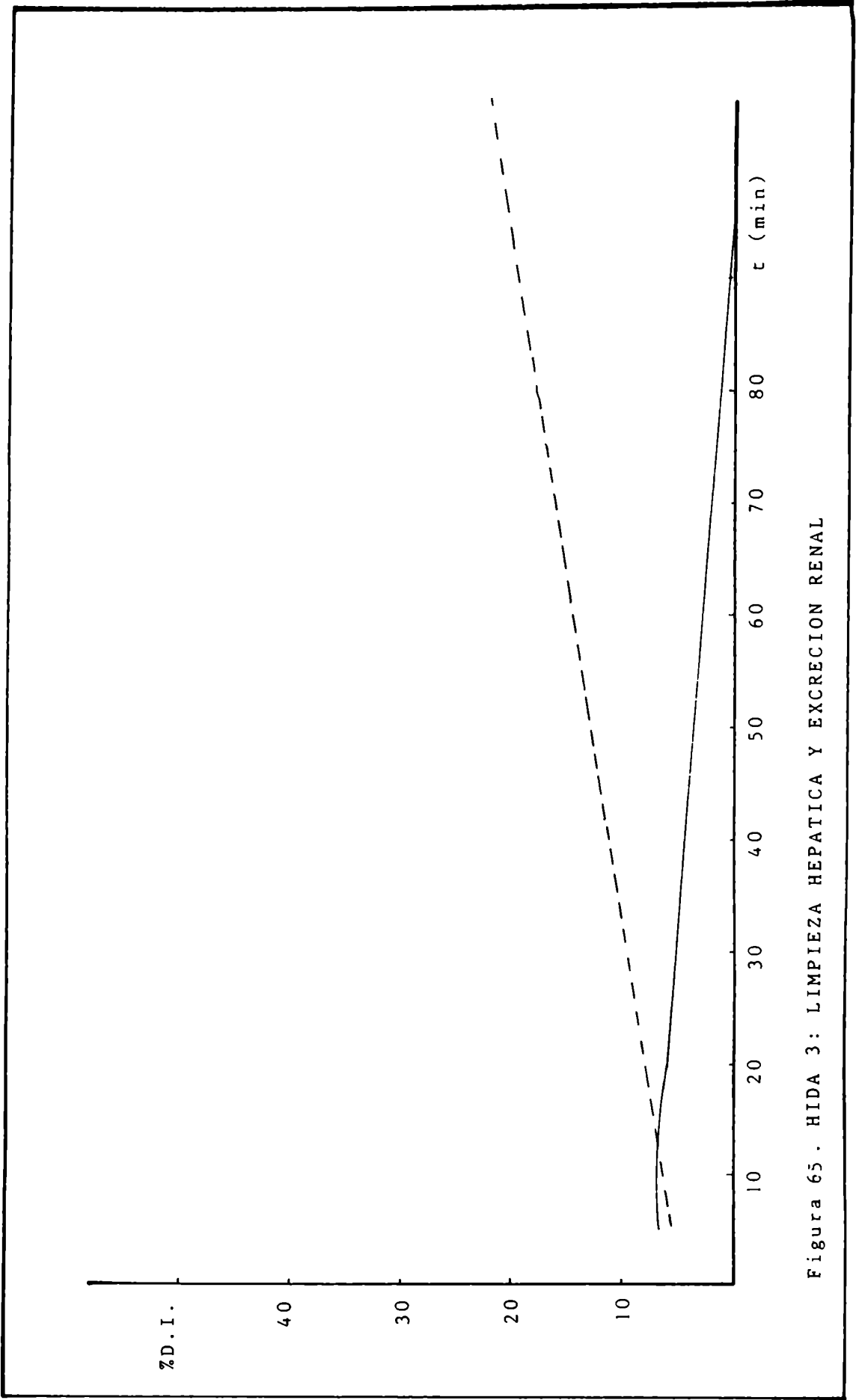


Figura 65. HIDA 3: LIMPIEZA HEPATICA Y EXCRECION RENAL

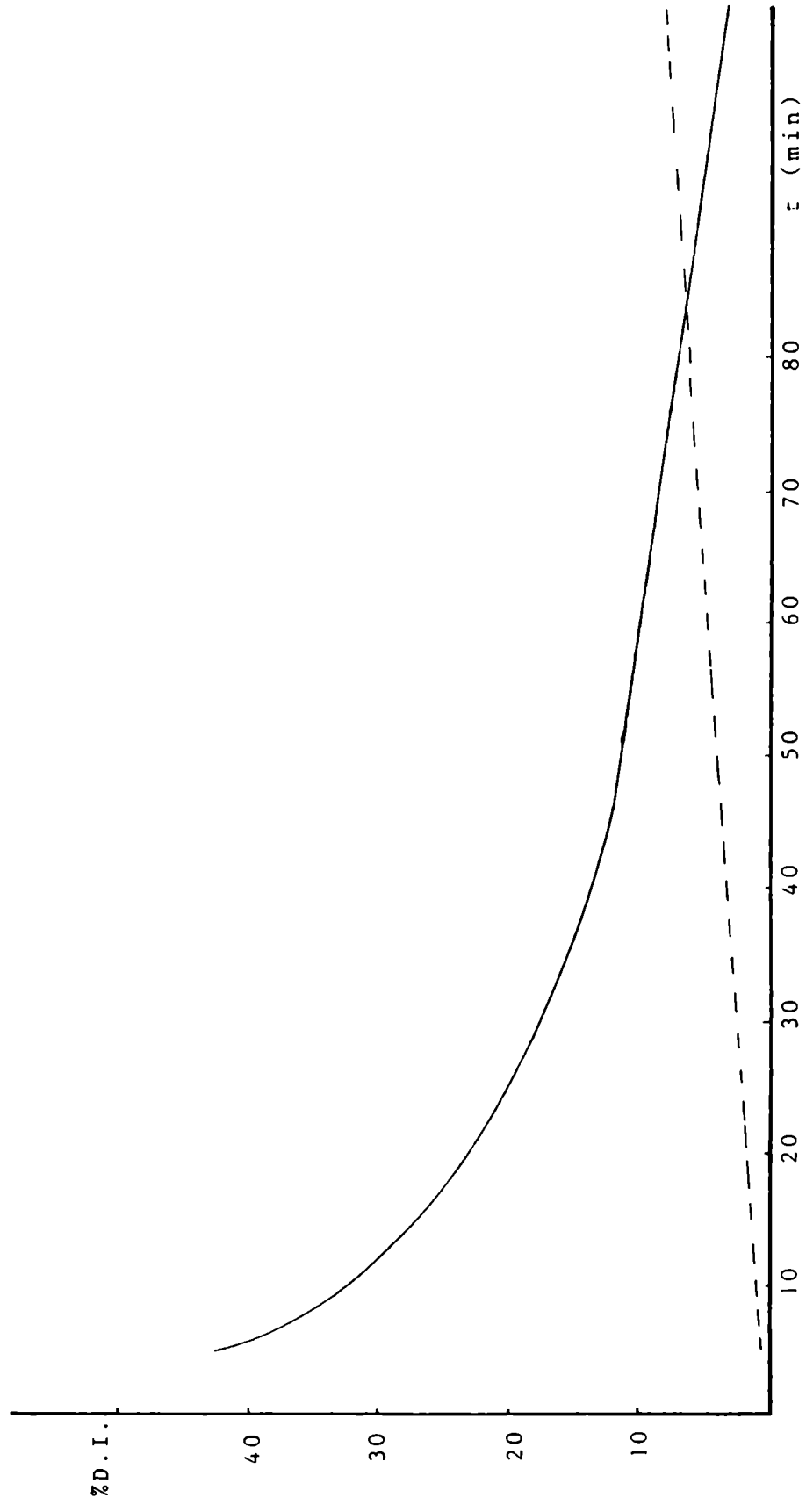


Figura 65. HIDA 4: LIMPIEZA HEPATICA Y EXCRECION RENAL

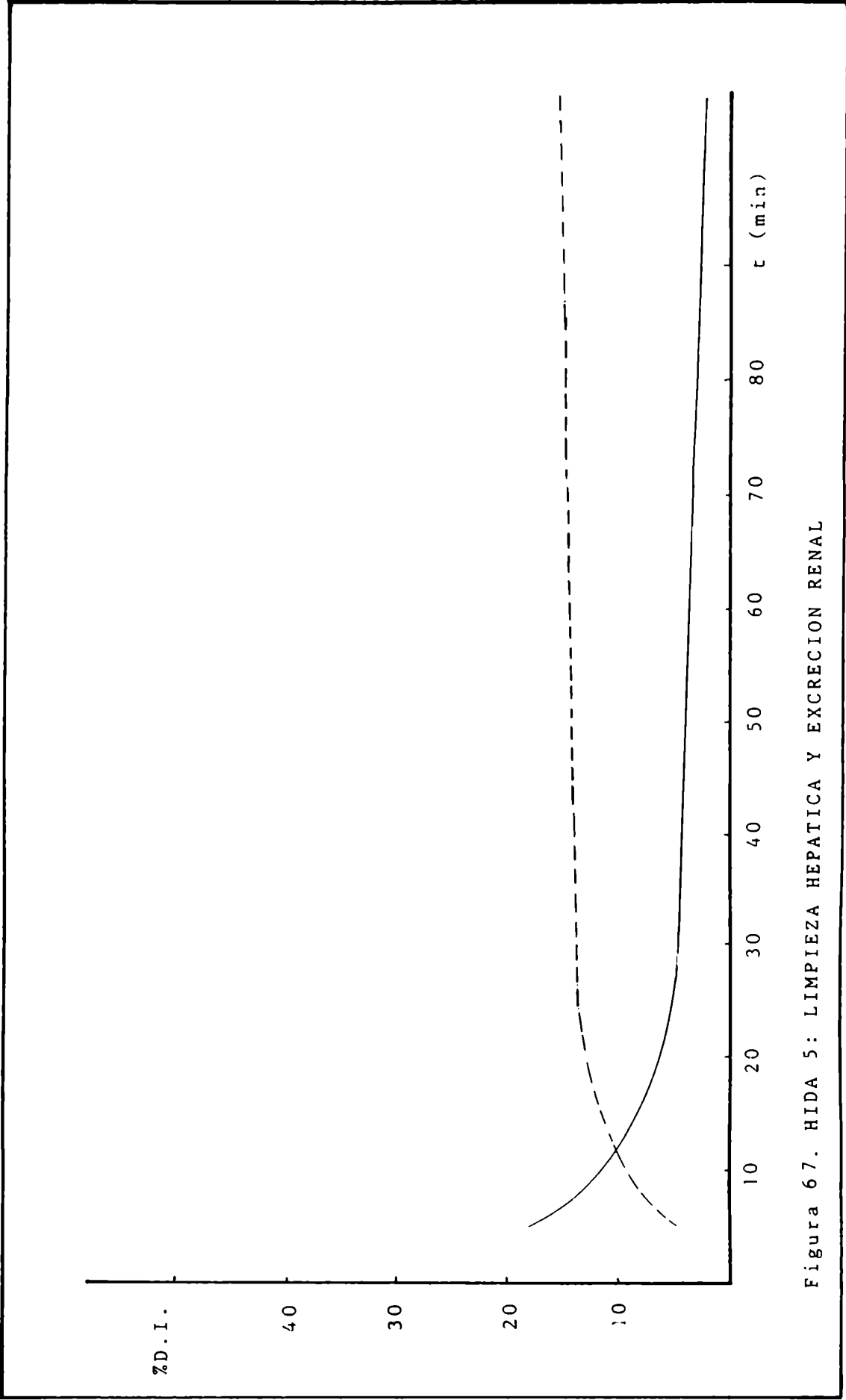


Figura 67. HIDA 5: LIMPIEZA HEPATICA Y EXCRECION RENAL

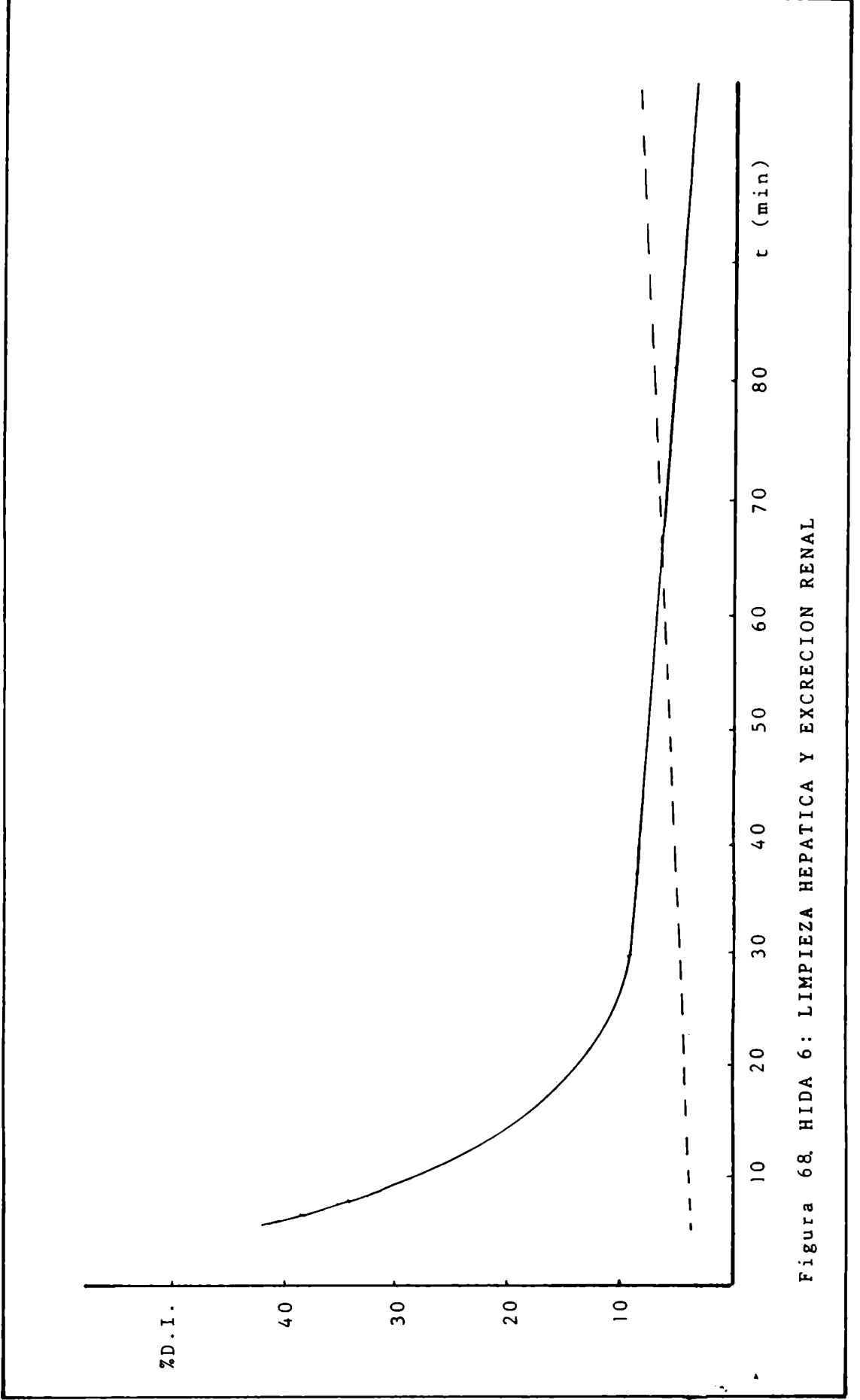


Figura 68. HIDA 6: LIMPIEZA HEPATICA Y EXCRECION RENAL

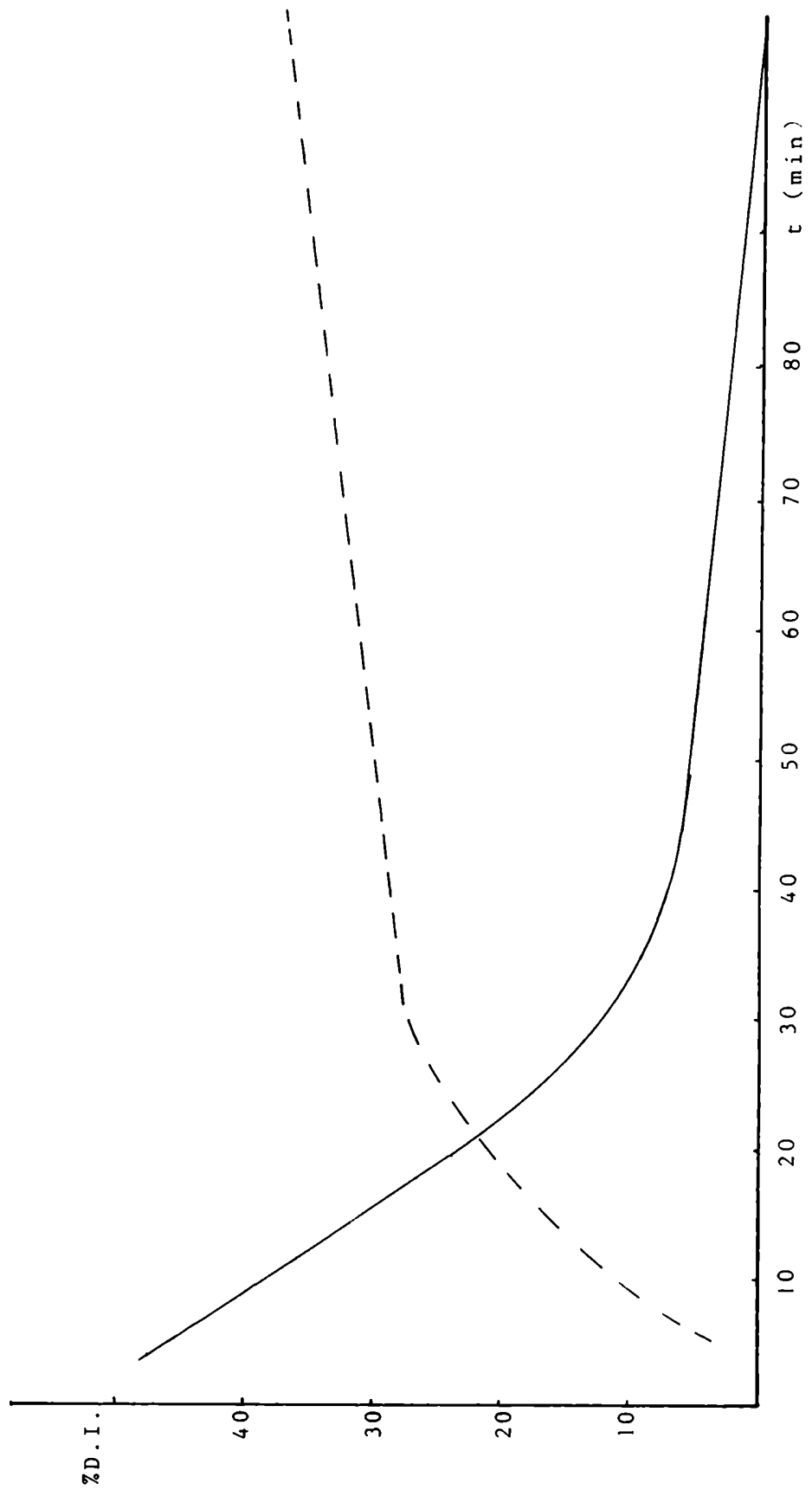


Figura 59. HIDA 7: LIMPIEZA HEPATICA Y EXCRECION RENAL

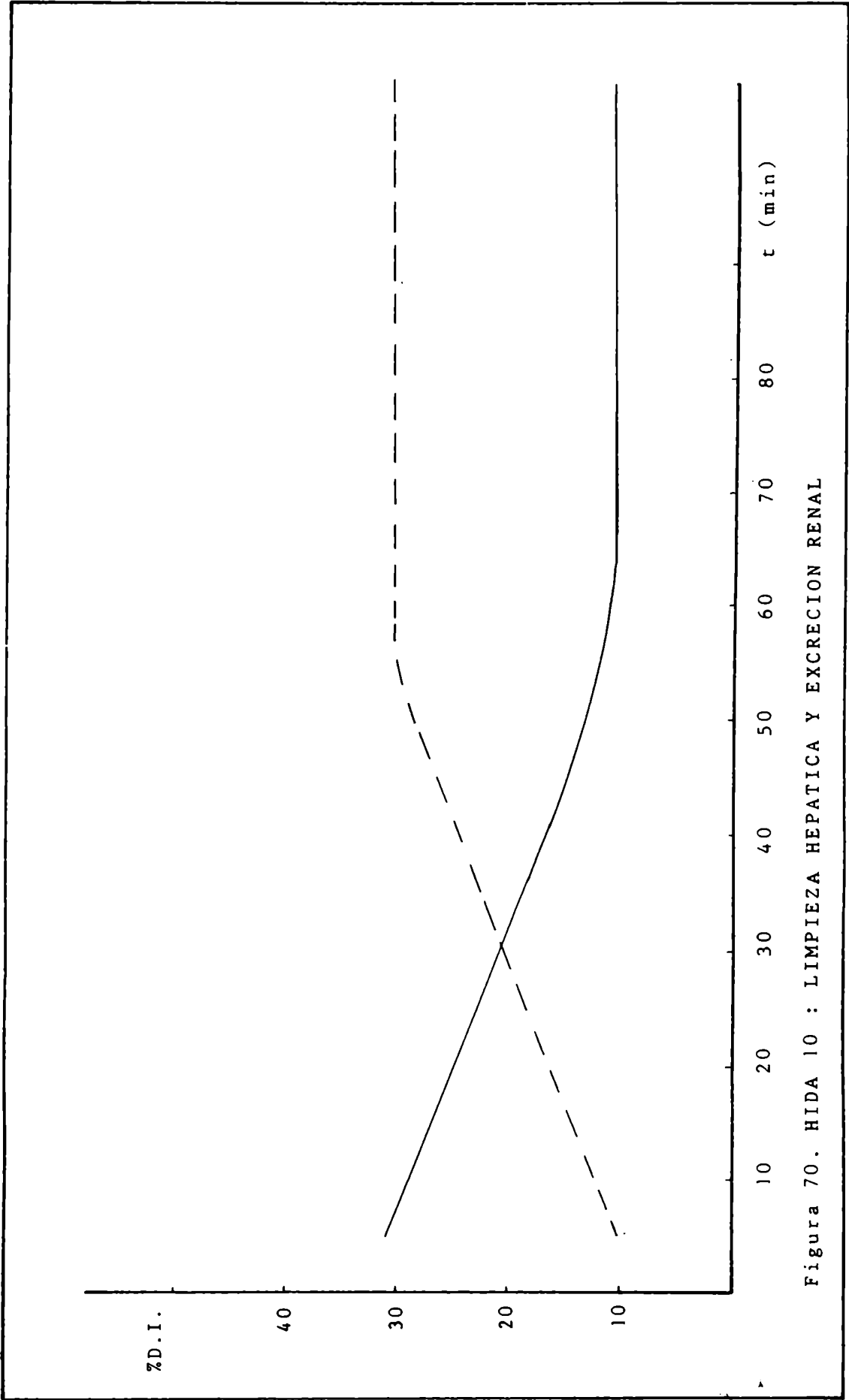


Figura 70. HIDA 10 : LIMPIEZA HEPATICA Y EXCRECION RENAL

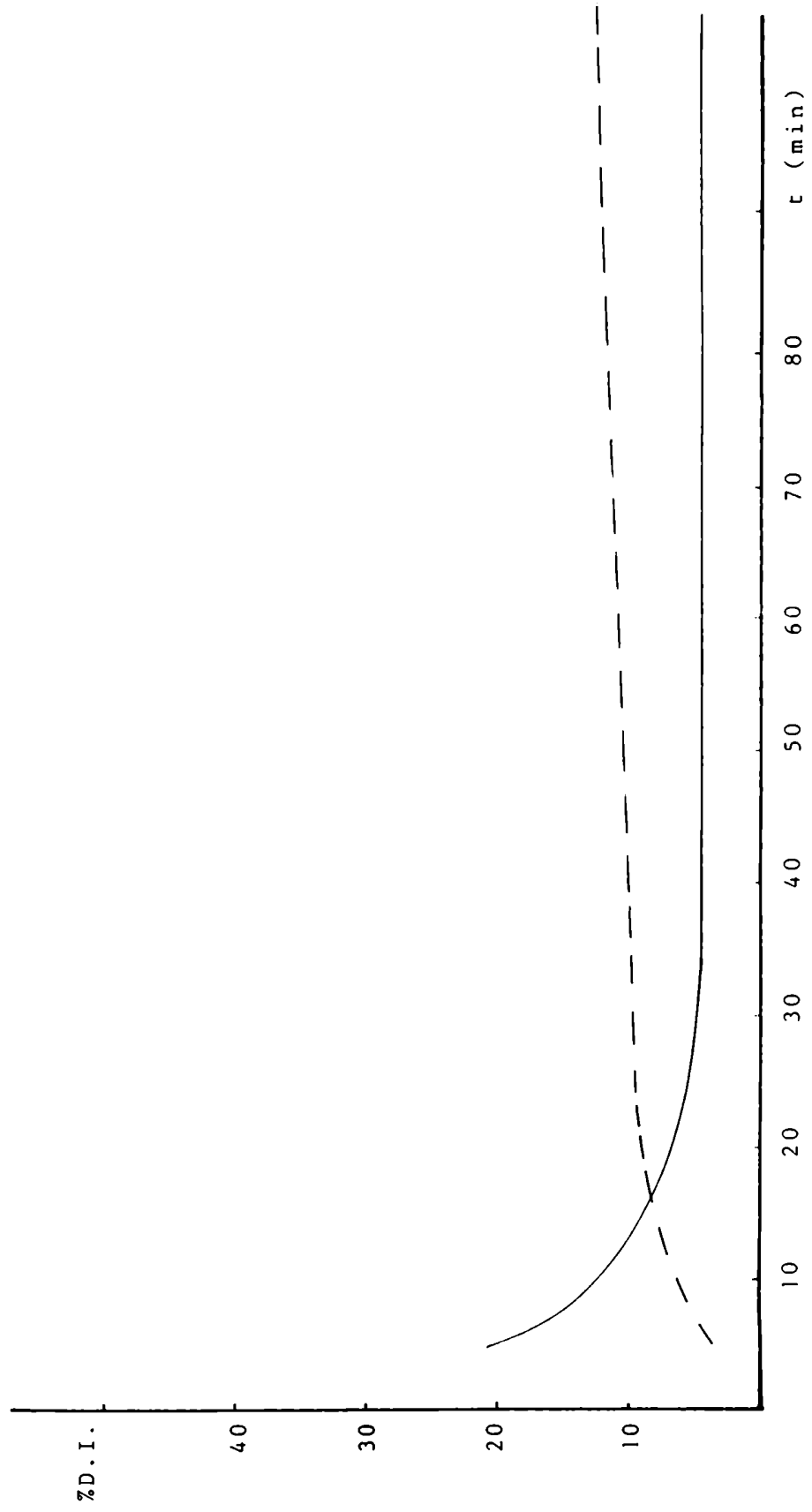


Figura 71. MEBROFENIN: LIMPIEZA HEPATICA Y EXCRECION RENAL

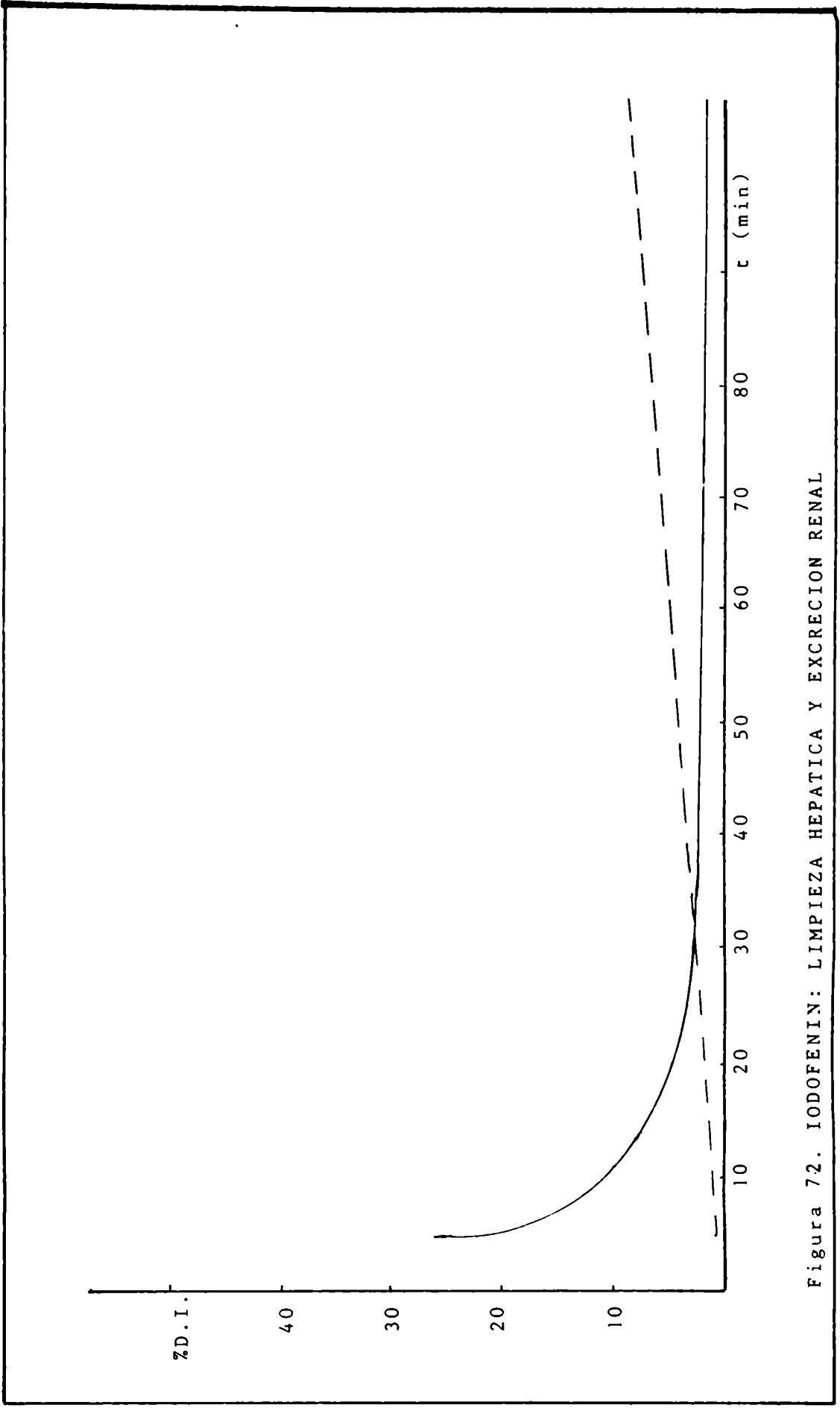


Figura 72. IODOFENIN: LIMPIEZA HEPATICA Y EXCRECION RENAL



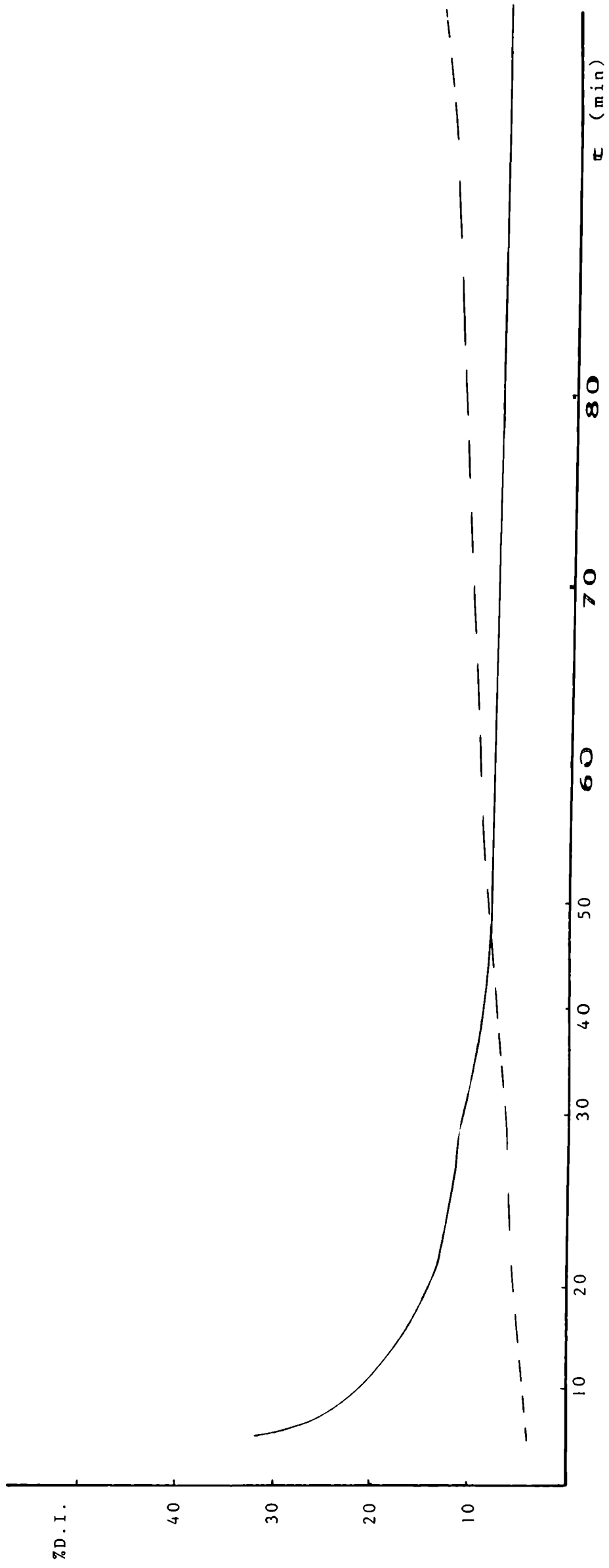


Figura 73. IODO-DIETIL —IDA: LIMPIEZA HEPATICA Y EXCRECION RENAL

Hida 3, Hida 4, Hida 5, Hida 6 y Hida 7, lo que permitió además la comparación entre distintos derivados con los mismos sustituyentes en el anillo bencénico, tal el caso del Hida 3 y Hida 5; y el Hida 4, Hida 6 y Hida 7 (Tablas 27 al 31). Además se procedió de igual forma para los derivados halogenados (Tablas 32, 33 y 34) y para el Hida 10 (Tabla 35).

TIEMPO (minutos)	ORGANO	%D.I.+D.E.		p
		Hida 3 n=6	Hida 5 n=6	
5	hígado	7,3 <sub>±</sub> 2,6	18,1 <sub>±</sub> 2,3	< 0,05
30	hígado	6,3 <sub>±</sub> 3,7	10,1 <sub>±</sub> 2,1	> 0,05
120	orina	24,7 <sub>±</sub> 3,4	14,4 <sub>±</sub> 1,1	< 0,05
		Hida 4 n=6	Hida 6 n=6	
5	hígado	43,3 <sub>±</sub> 4,6	43,3 <sub>±</sub> 2,2	> 0,05
30	hígado	25,4 <sub>±</sub> 8,3	9,2 <sub>±</sub> 1,5	< 0,05
120	orina	5,7 <sub>±</sub> 0,4	9,3 <sub>±</sub> 2,9	< 0,05

TABLA 26. COMPARACION DEL HIDA 3 Y HIDA 5, Y DEL HIDA 4 Y HIDA 6.

#### 9. PODER LIPOFILICO

Se estudió a través del cálculo del coeficiente de partición octanol/agua para los distintos derivados, lo que permitió otra forma de comparación entre los complejos estudiados. Los resultados se presentan en la tabla 36.

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE ORINA n=12	p
orina	8,9 $\pm$ 1,4	40,1 $\pm$ 2,2	< 0,05
vesícula biliar	8,8 $\pm$ 3,6	4,8 $\pm$ 2,1	> 0,05
hígado	7,2 $\pm$ 1,8	7,2 $\pm$ 0,8	> 0,05

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE BILIS n=12	p
orina	8,9 $\pm$ 1,4	20,1 $\pm$ 2,1	< 0,05
vesícula biliar	8,8 $\pm$ 3,6	7,2 $\pm$ 1,4	> 0,05
hígado	7,2 $\pm$ 1,8	5,9 $\pm$ 1,8	> 0,05

ORGANO	REINYECCION DE ORINA	REINYECCION DE BILIS	p
orina	40,1 $\pm$ 2,1	20,1 $\pm$ 2,1	< 0,05
vesícula biliar	4,8 $\pm$ 2,1	7,2 $\pm$ 1,4	> 0,05
hígado	7,2 $\pm$ 0,8	5,9 $\pm$ 1,8	> 0,05

TABLA 27. HIDA 3 RUTAS METABOLICAS. La distribución biológica se llevó a cabo a los 15 minutos post administración.

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE ORINA n=12	p
orina	5,8±2,1	35,7±2,1	< 0,05
vesícula biliar	4,8±2,4	1,5±0,1	< 0,05
hígado	22,3±4,0	5,0±1,2	< 0,05

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE BILIS n=12	p
orina	5,8±2,1	5,0±3,3	> 0,05
vesícula biliar	4,8±2,4	10,4±4,0	> 0,05
hígado	22,3±4,0	26,1±7,5	> 0,05

ORGANO	REINYECCION DE ORINA	REINYECCION DE BILIS	p
orina	35,7±2,1	5,0±3,3	< 0,05
vesícula biliar	1,5±0,1	10,4±4,0	< 0,05
hígado	5,0±1,2	26,1±7,5	< 0,05

TABLA 28. HIDA 4 RUTAS METABOLICAS. La distribución biológica se llevó a cabo a los 15 minutos post administración.

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE ORINA n=12	p
orina	11,2 $\pm$ 2,2	39,9 $\pm$ 1,9	< 0,05
vesícula biliar	7,0 $\pm$ 1,5	2,8 $\pm$ 0,9	< 0,05
hígado	7,0 $\pm$ 2,0	7,1 $\pm$ 1,8	> 0,05

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE BILIS n=12	p
orina	11,2 $\pm$ 2,2	19,4 $\pm$ 2,6	< 0,05
vesícula biliar	7,0 $\pm$ 1,5	6,4 $\pm$ 0,5	> 0,05
hígado	7,0 $\pm$ 2,0	6,8 $\pm$ 1,4	> 0,05

ORGANO	REINYECCION DE ORINA	REINYECCION DE BILIS	p
orina	39,9 $\pm$ 1,9	19,8 $\pm$ 2,6	< 0,05
vesícula biliar	2,8 $\pm$ 0,9	6,4 $\pm$ 0,5	< 0,05
hígado	7,1 $\pm$ 1,8	6,8 $\pm$ 1,4	> 0,05

TABLA 29 . HIDA 5 RUTAS METABOLICAS. La distribución biológica se llevó a cabo a los 15 minutos post administración.

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE ORINA n=12	p
orina	3,2 $\pm$ 1,5	53,1 $\pm$ 2,3	< 0,05
vesícula biliar	6,4 $\pm$ 4,1	1,7 $\pm$ 0,8	< 0,05
hígado	18,4 $\pm$ 3,5	6,9 $\pm$ 1,3	< 0,05

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE BILIS n=12	p
orina	3,2 $\pm$ 1,5	21,9 $\pm$ 1,1	< 0,05
vesícula biliar	6,4 $\pm$ 4,1	7,5 $\pm$ 1,3	> 0,05
hígado	18,4 $\pm$ 3,5	11,3 $\pm$ 0,4	< 0,05

ORGANO	REINYECCION DE ORINA	REINYECCION DE BILIS	p
orina	53,1 $\pm$ 2,3	21,9 $\pm$ 1,1	< 0,05
vesícula biliar	1,7 $\pm$ 0,8	7,5 $\pm$ 1,3	< 0,05
hígado	6,9 $\pm$ 1,3	11,3 $\pm$ 0,4	< 0,05

TABLA 30. HIDA 6 RUTAS METABOLICAS. La distribución biológica se llevó a cabo a los 15 minutos post administración.

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE ORINA n=12	P
orina	12,0 <sub>±</sub> 0,2	51,0 <sub>±</sub> 4,2	< 0,05
vesícula biliar	5,5x10 <sup>-3</sup>	-	-
hígado	32,0 <sub>±</sub> 2,1	9,7 <sub>±</sub> 0,6	< 0,05

TABLA 31. HIDA 7. RUTAS METABOLICAS. La distribución biológica se llevó a cabo a los 15 minutos post administración. No se consigna reinyección de bilis porque no transita por vesícula biliar.

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE ORINA n=12	p
orina	2,2±0,8	18,6±9,1	<0,05
vesícula biliar	1,3±0,6	1,9±0,8	>0,05
hígado	23,0±15,0	23,7±14,2	>0,05

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE BILIS n=12	p
orina	2,2±0,8	11,5±6,1	<0,05
vesícula biliar	1,3±0,6	5,1±3,0	<0,05
hígado	23,0±15,0	14,3±9,0	>0,05

ORGANO	REINYECCION DE ORINA	REINYECCION DE BILIS	p
orina	18,6±9,1	11,5±6,1	>0,05
vesícula biliar	1,9±0,8	5,1±3,0	<0,05
hígado	23,7±14,2	14,3±9,0	>0,05

TABLA 32 MEBROFENIN RUTAS METABOLICAS. La distribución biológica se llevó a cabo a los 5 minutos post administración.



ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE ORINA n=12	P
orina	1,5 <sub>±</sub> 0,6	29,5 <sub>±</sub> 7,8	< 0,05
vesícula biliar	5,0 <sub>±</sub> 3,2	9,2 <sub>±</sub> 4,3	< 0,05
hígado	23,0 <sub>±</sub> 9,5	12,1 <sub>±</sub> 2,9	< 0,05

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE BILIS n=12	P
orina	1.5 <sub>±</sub> 0.6	4,1 <sub>±</sub> 1,2	< 0.05
vesícula biliar	5.0 <sub>±</sub> 3.2	9.1 <sub>±</sub> 3.9	< 0.05
hígado	23.0 <sub>±</sub> 9.5	10.3 <sub>±</sub> 2,8	< 0.05

ORGANO	REINYECCION DE ORINA	REINYECCION DE BILIS	P
orina	29.5 <sub>±</sub> 7.8	4.1 <sub>±</sub> 1.2	< 0.05
vesícula biliar	9.2 <sub>±</sub> 4.3	9,1 <sub>±</sub> 3,9	> 0,05
hígado	12,1 <sub>±</sub> 2,9	10,3 <sub>±</sub> 2,8	> 0,05

TABLA 33 IODOFENIN RUTAS METABOLICAS. La distribución biológica se llevó a cabo a los 5 minutos post administración.

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE ORINA n=12	P
orina	5,1±0,8	29,5±8,0	<0,05
vesícula biliar	5,3±2,0	4,9±2,1	>0,05
hígado	40,1±5,0	16,2±4,1	<0,05

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE BILIS n=12	P
orina	5,1±0,8	20,2±4,6	<0,05
vesícula biliar	5,3±2,0	5,1±1,8	>0,05
hígado	40,1±5,0	34,4±3,4	<0,05

ORGANO	REINYECCION DE ORINA	REINYECCION DE BILIS	P
orina	29,5±8,0	20,2±4,6	<0,05
vesícula biliar	4,9±2,1	5,1±1,8	>0,05
hígado	16,2±4,1	34,4±3,4	<0,05

TABLA 34 IODO-DIETIL-IDA RUTAS METABOLICAS. La distribución biológica se llevó a cabo a los 5 minutos post administración.

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE ORINA n=12	p
orina	12,5 $\pm$ 3,1	52,1 $\pm$ 9,4	< 0,05
vesícula biliar	1,5 $\pm$ 0,8	0,4 $\pm$ 0,1	< 0,05
hígado	40,5 $\pm$ 3,5	9,7 $\pm$ 2,3	< 0,05

ORGANO	PRODUCTO ORIGINAL n=12	REINYECCION DE BILIS n=12	p
orina	12,5 $\pm$ 3,1	51,0 $\pm$ 8,6	< 0,05
vesícula biliar	1,5 $\pm$ 0,8	0,9 $\pm$ 0,7	< 0,05
hígado	40,5 $\pm$ 3,5	8,1 $\pm$ 1,8	< 0,05

ORGANO	REINYECCION DE ORINA	REINYECCION DE BILIS	p
orina	52,1 $\pm$ 9,4	51,0 $\pm$ 8,6	> 0,05
vesícula biliar	0,4 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,7	< 0,05
hígado	9,7 $\pm$ 2,3	8,1 $\pm$ 1,8	> 0,05

TABLA 35. HIDA 10 RUTAS METABOLICAS. La distribución biológica se llevó a cabo a los 10 minutos post administración.

DERIVADOS	$\ln a_0/a_a$
HIDA 1	$-2,43 \pm 0,20$
HIDA 2	$-0,72 \pm 0,20$
HIDA 3	$1,69 \pm 0,17$
HIDA 4	$2,79 \pm 0,10$
HIDA 5	$1,90 \pm 0,19$
HIDA 6	$2,50 \pm 0,10$
HIDA 7	$2,60 \pm 0,15$
HIDA 10	$-1,55 \pm 0,12$
Mebrofenin	$1,46 \pm 0,62$
Iodofenin	$1,58 \pm 0,01$
Iodo-dietil-Ida	$0,95 \pm 0,21$

TABLA 36. PODER LIPOFILICO

## 10. USO EN SERES HUMANOS

### 10.1. Mebrofenin

En los voluntarios normales estudiados con Disida se obtuvieron los siguientes valores:

relación hígado/corazón 3,5 a 12  
relación hígado/riñón 6,2 a 9,9, no se visualizó imagen renal en dos personas  
eliminación urinaria 10,4 a 58,2.

Los mismos parámetros al utilizarse Mebrofenin fueron:  
relación hígado/corazón 4,4 a 6,8  
relación hígado/riñón 9,4 a 14,8 (no se visualizó riñón en las mismas dos personas)  
eliminación urinaria 5,0 a 19,8. (Tabla 37)

En los patológicos se obtuvieron los siguientes resultados cuando se utilizó Disida:

relación hígado/corazón: 0,9 a 5,3  
relación hígado/riñón: 1,0 a 9,9  
eliminación urinaria: 4,7 a 49,7.

En los mismos pacientes utilizando Mebrofenin se obtuvieron los siguientes resultados:

relación hígado/corazón: 0,7 a 5,7  
relación hígado/riñón: 1,2 a 17,0  
. eliminación urinaria: 0,5 a 32,0. (Tabla 38)

La bilirrubinemia directa osciló entre 1,2 y 30,7 mg/100 ml. A un paciente no pudo determinársele, pero clínicamente presentaba una ictericia marcada (Tabla 38).

10.1.1. Análisis cualitativo: La visualización subjetiva de las imágenes realizadas por dos observadores, coincidieron en la superioridad de las que fueron obtenidas utilizando el Mebrofenin, esto referido a la mayor nitidez de la visualización hepática y menor visualización renal, que principalmente a derecha no interfirió con la zona vesicular.

En cuanto a la visualización de las estructuras: vías biliares intrahepáticas, colédoco y vesícula biliar y aparición en duodeno, subjetivamente dos observadores no notaron diferencias significativas en cuanto a tiempos de aparición (figura 74).

10.1.2. Análisis cuantitativo: De los datos obtenidos y comparados pudo observarse:

- . La relación hígado/corazón, que evidencia la depuración hepática del compuesto, fue similar para los dos derivados tanto en los normales como en los patológicos, no encontrándose diferencias significativas.
- . La relación hígado/riñón, que pone en evidencia la competencia en las vías de excreción de los compuestos, tanto en los normales como en los patológicos, tomado como media aritmética, fue mayor para el Mebrofenin que para el Disida, poniendo en evidencia el mayor papel hepático en el manejo del primer compuesto con relación a la vía renal. En

NORMAL	DISIDA			MEBROFENIN		
	H/C	H/R	E.U	H/C	H/R	E.U
1	12,0	6,5	58,2	4,4	9,4	16,4
2	4,4	6,2	51,0	6,8	13,6	5,0
3	3,5	nsv	16,8	5,0	nsv	19,8
4	4,6	nsv	19,2	5,9	nsv	10,6
5	6,8	9,9	10,4	6,5	14,7	14,8

H/C relación hígado/corazón

H/R relación hígado/riñón

E.U eliminación urinaria

TABLA 37 . ESTUDIOS EN HUMANOS NORMALES CON MEBROFENIN Y DISIDA

DISIDA										MEBROFENIN										DIAGNOSTICO
B.T.	B.D.	B.I.	H/C	H/R	E.U	B.T.	B.D.	B.I.	H/C	H/R	E.U	B.T.	B.D.	B.I.	H/C	H/R	E.U			
1	1,14	0,57	0,57	2,08	2,61	32,8	1,14	0,57	0,57	1,41	2,00	22,9						Colecistitis aguda		
2	2,80	nsd	nsd	4,50	5,50	nj	2,60	nsd	nsd	3,60	7,50	nj						Colecistitis aguda		
3	14,50	11,0	3,50	1,40	1,40	49,7	12,0	9,00	3,00	1,30	2,20	3,0						Litiasis residual de colédoco		
4	nsd	nsd	nsd	2,90	nsd	34,1	nsd	nsd	nsd	nsd	4,20	nsd						Litiasis residual de colédoco		
5	1,10	0,8	0,3	5,30	7,30	16,5	1,40	0,40	1,00	5,80	14,0	2,2						Litiasis coledociana		
6	2,60	1,60	1,00	2,50	4,70	10,1	1,80	1,15	0,65	3,30	16,0	2,6						Litiasis coledociana		
7	15,00	12,90	2,10	0,90	1,00	4,7	11,00	6,56	4,54	1,10	1,60	1,6						Litiasis coledociana		
8	16,60	12,60	4,00	1,50	1,50	11,8	16,80	11,00	5,80	0,70	1,20	3,5						Litiasis coledociana		
9	19,00	nsd	nsd	2,20	19,3	23,01	23,01	nsd	0,70	1,90	0,70	4,7						carcinoma de páncreas		
10	30,21	23,01	7,20	3,70	4,80	35,9	17,80	15,50	2,30	3,40	6,50	10,6						carcinoma de encrucijada		
11	3,30	1,70	1,60	3,10	3,70	19,4	4,90	2,28	2,62	2,80	5,50	2,2						Cirrosis biliar primaria		
12	1,20	nsd	nsd	5,30	9,90	11,9	1,00	nsd	nsd	5,70	17,00	0,5						Pancreatitis aguda		

B.T. bilirrubina total                    nsd no se determinó  
 B.D. bilirrubina directa                nj no recogió orina  
 B.I. bilirrubina indirecta

TABLA 38 . ESTUDIO EN PACIENTES PATOLOGICOS CON DISIDA Y MEBROFENIN

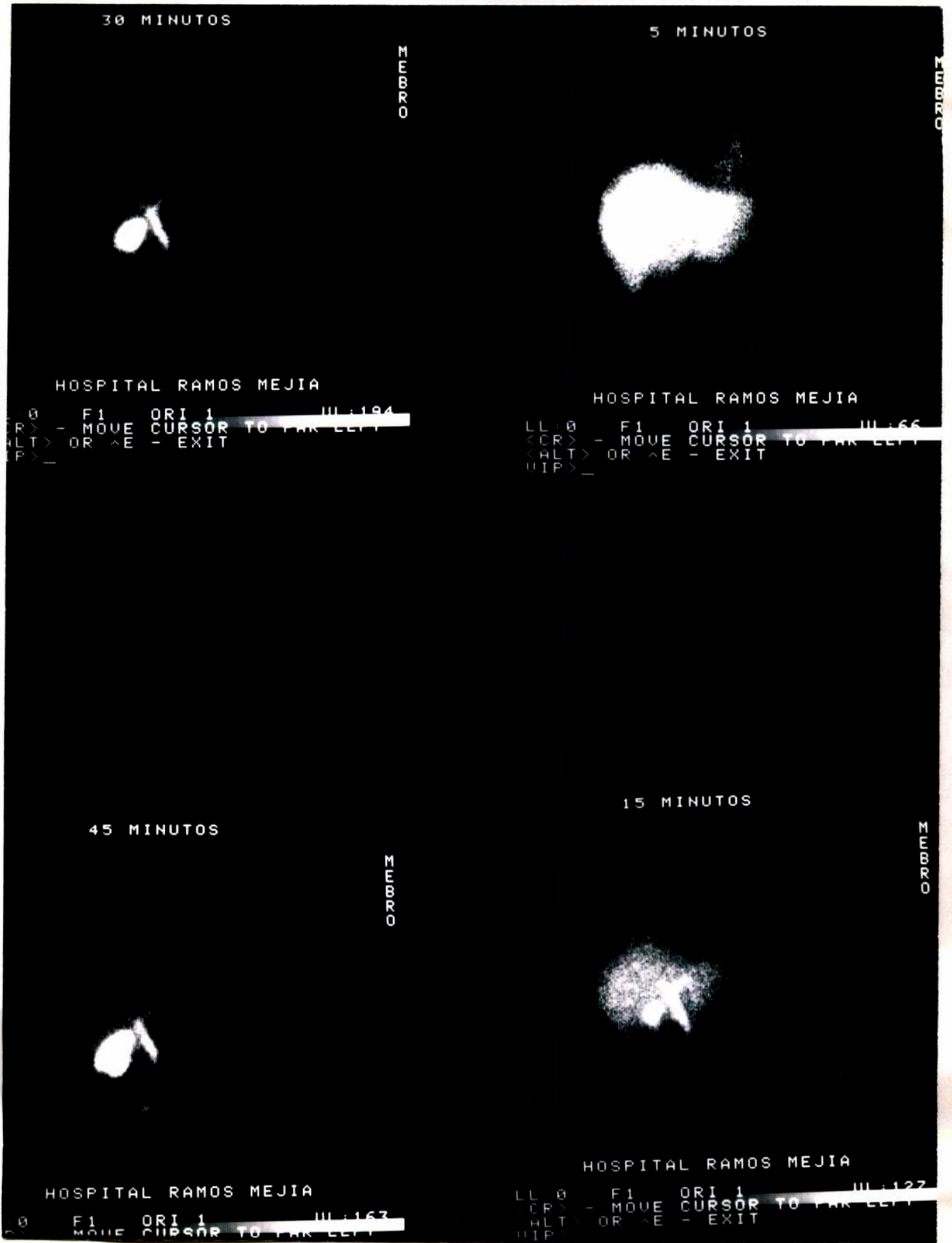


Figura 74. Imágenes obtenidas en un individuo normal utilizando Mebrofenin





Figura 74. (Cont)

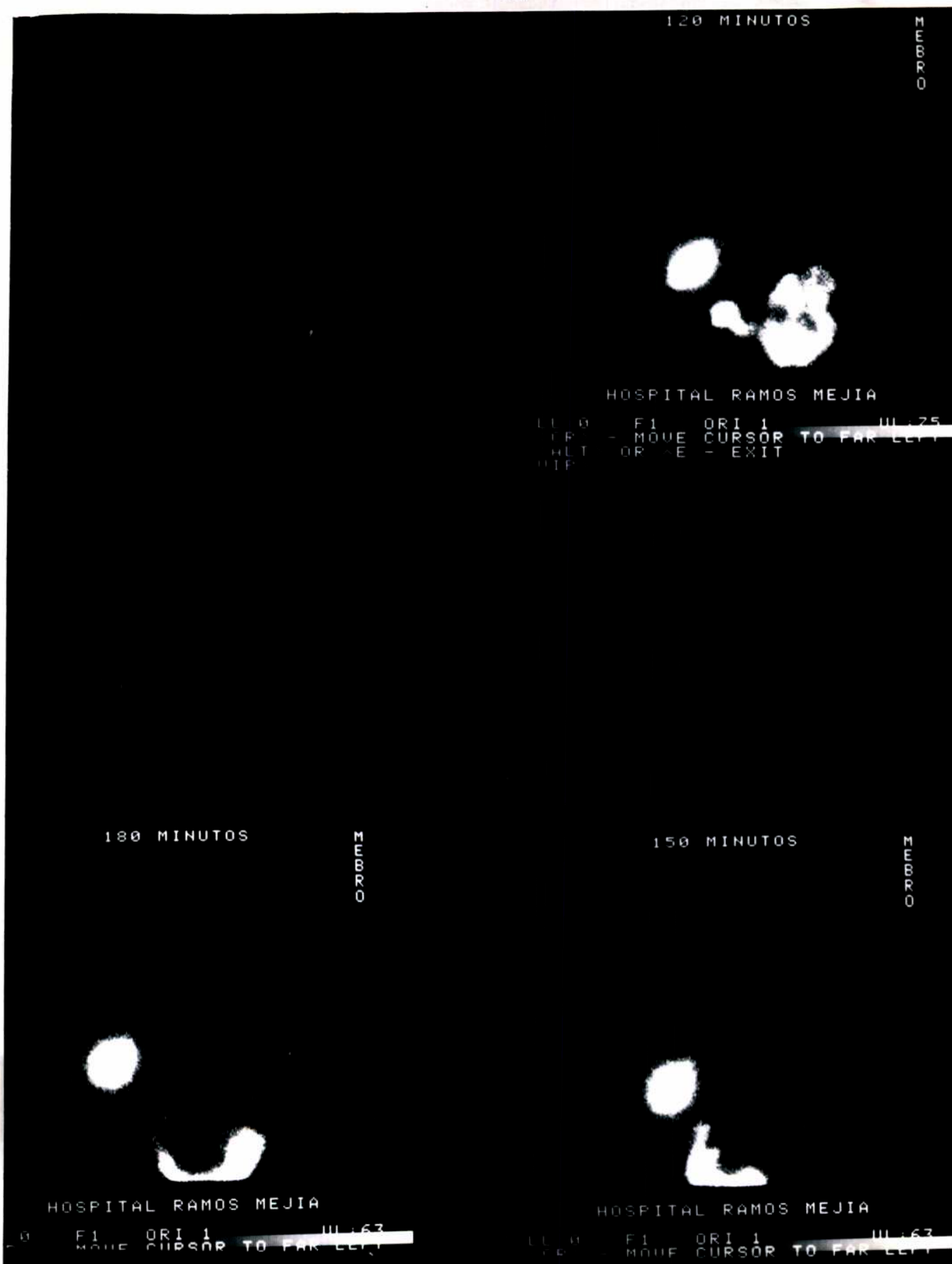


Figura 74. (Cont.)

los tres casos normales en los que pudo determinarse esta relación por visualizarse el riñón, la mayor concentración hepática fue significativa.

De los doce casos patológicos, en uno no pudo determinarse por problemas técnicos y en los once casos restantes, únicamente en dos la relación fue más alta para el Disida, pero con cifras significativamente similares (2,6 a 2,0 y 2,2 a 1,9).

Con respecto a la eliminación urinaria, si bien tomados los casos normales la diferencia en cuanto a la menor eliminación por vía renal del Mebrofenin fue significativa, hubo imbricación de casos entre los dos compuestos. Por el contrario en los casos patológicos, el 100% eliminó mayor cantidad de Disida por la orina. El tener todos estos pacientes cifras anormales de bilirrubinemia, nos lleva a suponer la existencia de menor competencia del Mebrofenin con la bilirrubina y por ende la elección del mismo para el estudio del paciente icterico. Esto último, unido a la menor eliminación urinaria del Mebrofenin, nos llevaría a afirmar la superioridad del mismo frente a otros compuestos utilizados para la realización de colecistografías radioisotópicas.

#### 10.2. HIDA 10

En los voluntarios normales estudiados se obtuvieron los siguientes resultados:

relación hígado/corazón de 2,0 a 4,6

relación hígado/riñón de 2,4 a 5,4

eliminación urinaria de 10,2 a 57,0

aparición de las vías intrahepáticas entre 7 a 11 minutos, no pudiéndose identificarlas en tres personas

aparición de las vías biliares extrahepáticas entre 7 a 12 minutos

aparición de la vesícula biliar entre 9 y 16 minutos. En un paciente no se visualizó por ser colecistectomizada.

aparición del duodeno entre 14 y 18 minutos (Tabla 39).

10.2.1. Análisis cualitativo: La visualización subjetiva de las imágenes realizadas por dos observadores, coincide en la superioridad de las que fueron obtenidas utilizando el Mebrofenin, esto referido a la mayor nitidez de la visualización hepática y menor visualización renal, que principalmente a derecha no interfirió con la zona vesicular.

En varios de los casos estudiados se visualizaron perfectamente los riñones con concentración piélica del isótopo y uréteres. Es muy interesante el caso número 2 (figura 75) en el cual la marcada nitidez con que se ve la pelvis renal derecha, prácticamente sobre la escotadura cística y que podría eventualmente ser confundida con la vesícula biliar.

En cuanto a la visualización de las estructuras: vías biliares intrahepáticas, extrahepáticas, colédoco, vesícula biliar y aparición del duodeno, subjetivamente dos observa-

PACIENTE	H/C	H/R	E.U	T.A.I.	T.A.C.	T.A.D.	T.A.V.
1	3,1	3,8	13,3	nsv	9,0	15,0	
2	3,6	3,2	12,1	9,0	9,0	15,0	16,0
3	4,6	3,8	28,0	7,0	8,0	18,0	16,0
4	3,5	5,4	43,4	8,0	9,0	16,0	11,0
5	2,9	2,6	57,0	9,0	11,0	18,0	12,0
6	2,0	2,4	13,0	nsv	7,0	14,0	9,0
7	2,0	2,7	10,2	11,0	12,0	15,0	14,0
	(6,7)	(16,3)	(6,9)	(7,0)	(8,0)	(15,0)	(10,0)
8	2,4	3,6	15,3	nsv	12,0	17,0	15,0
	(3,3)	(7,9)	(3,4)	(nsv)	(11,0)	(15,0)	(15,0)

Los valores entre paréntesis de los pacientes 7 y 8 corresponden a estudios pareados realizados con Mebrofenin.

^paciente colecistectomizado

H/C relación hígado/corazón

H/R relación hígado/riñón

E.U eliminación urinaria

T.A.I. tiempo de aparición de la vías intrahepáticas

T.A.C. tiempo de aparición del colédoco

T.A.D. tiempo de aparición del duodeno

T.A.V. tiempo de aparición de la vesícula biliar

nsv no se visualizó

TABLA 39. ESTUDIO EN HUMANOS CON HIDA 10



dores no notaron diferencias significativas en cuanto a los tiempos de aparición (Figura 76).

En dos pacientes estudiados se realizó conjuntamente un estudio con Mebrofenin. (Figura 77).

10.2.2. Análisis cuantitativo: de los datos obtenidos y comparados puede observarse:

- .- La relación hígado/corazón, que evidencia el grado de depuración plasmática del compuesto por el hígado, fue más alta con el Mebrofenin que con el Hida 10, lo que pone de manifiesto la menor capacidad de este órgano para metabolizar este derivado.
- .- La relación hígado/riñón, que evidencia la competencia entre estos dos órganos en la excreción de los radiofármacos estudiados, también fue más alta para el Mebrofenin que para el Hida 10, poniendo de manifiesto la superioridad hepática para el manejo del Mebrofenin frente al Hida 10.
- .- La eliminación urinaria, como consecuencia de lo expresado anteriormente, se mostró mayor en el caso del Hida 10.
- .- Los tiempos de aparición de las estructuras hepáticas y extrahepáticas no evidenciaron diferencias entre ambos compuestos; esto se debe a que el manejo por parte del hígado, captación de más o menos masa del quelato, es similar en ambos estudios.

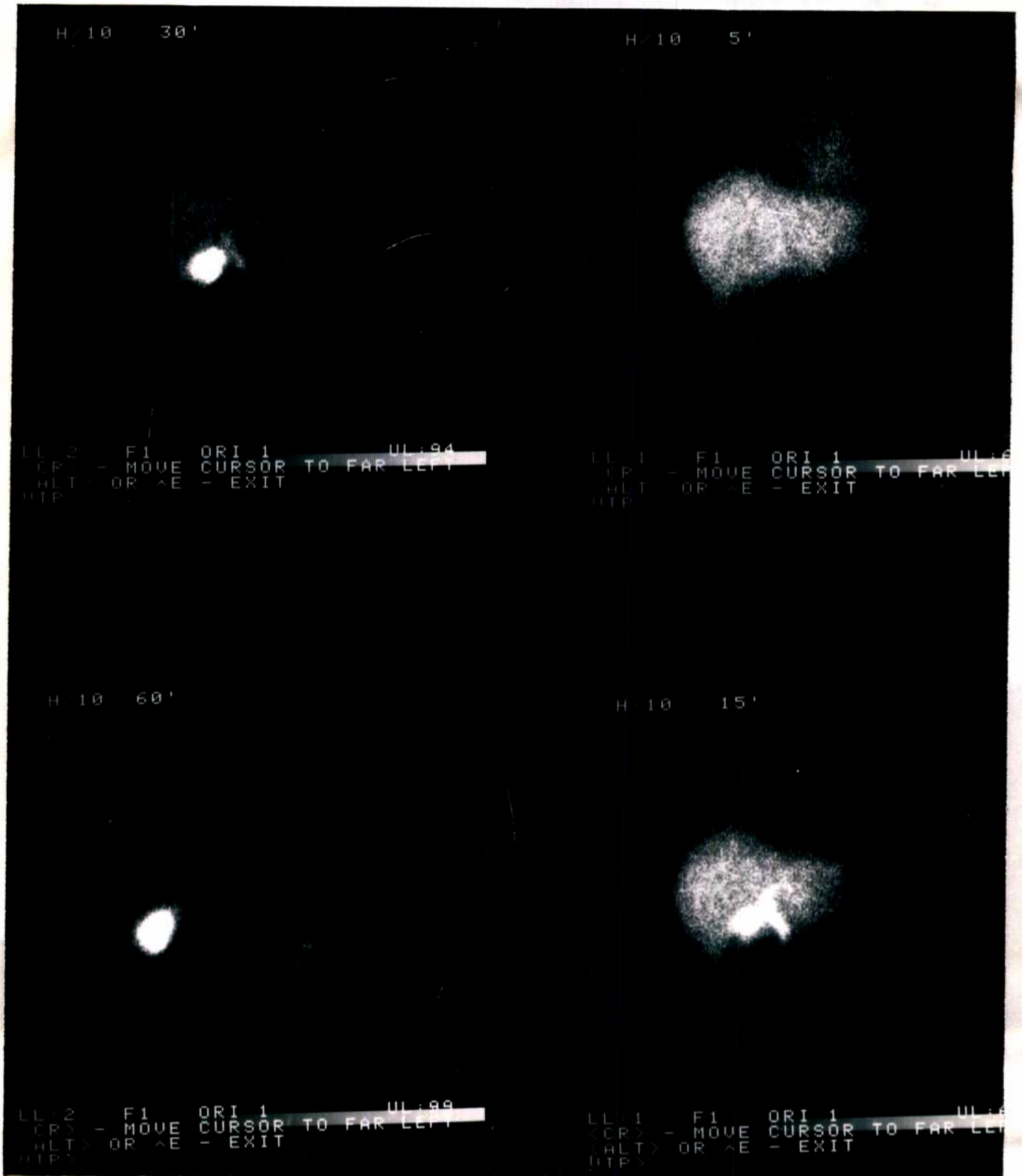


Figura 76. Estudio realizado con Hida 10 en voluntario sano

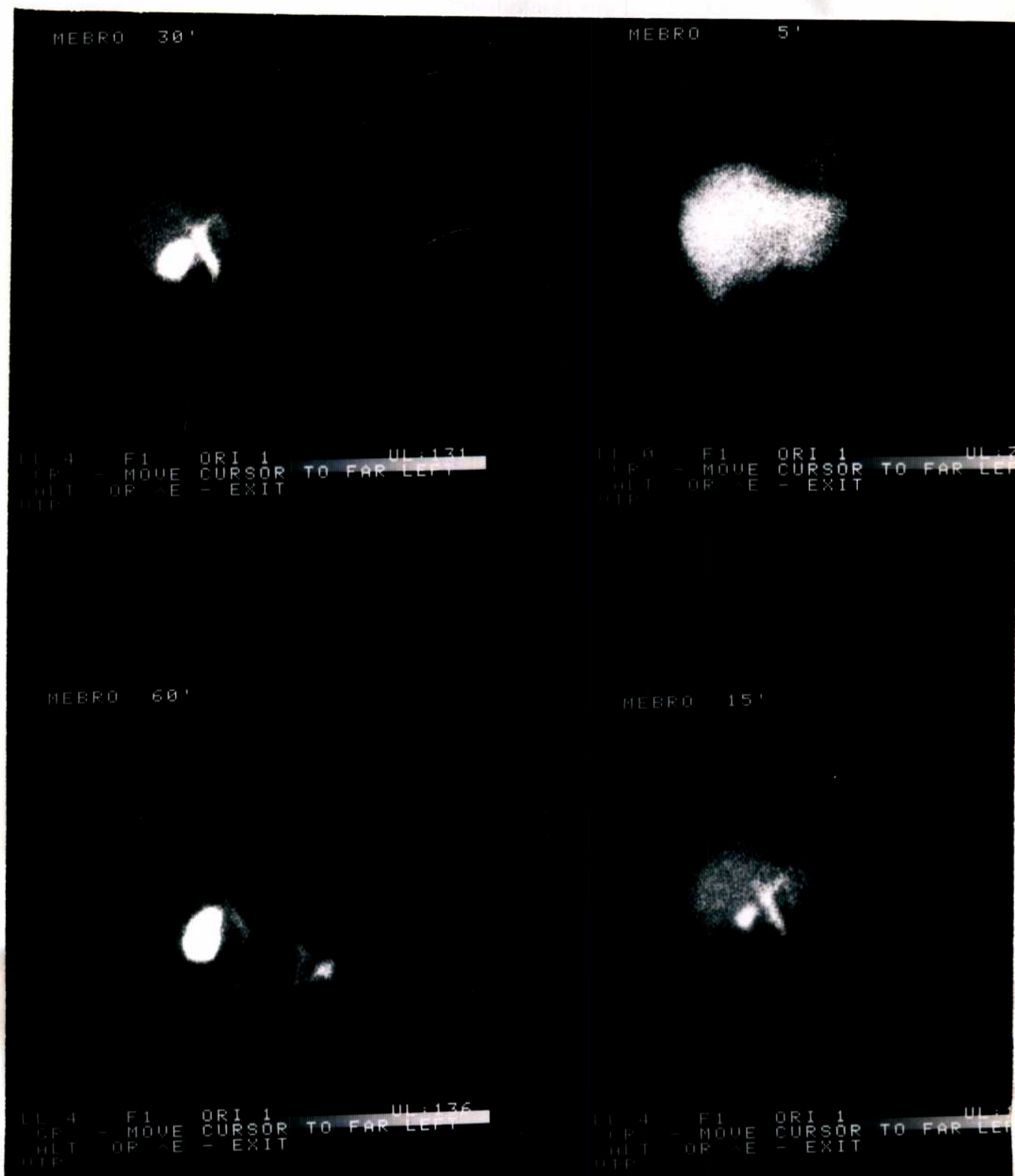


Figura 77. Estudio realizado con Mefrofenin en voluntario sano



## DISCUSSION

En los capítulos precedentes se han descripto, además de las consideraciones teóricas, una serie de pasos, tendientes a delinear una metodología de trabajo, y sus correspondientes resultados.

El objetivo final fue el estudio de la relación entre la estructura química y el comportamiento biológico de una serie de radiofármacos. Por ello el primer paso fue la síntesis de los compuestos en estudio, la mayoría de ellos ya conocidos, pues en sus complejos con Tc-99m se usaron o se usan actualmente como agentes de radiodiagnóstico. En otros casos se recurrió al diseño de nuevos compuestos, no conocidos previamente, tal el caso del HIDA 6, el 7 y el 10, con el objeto de facilitar el estudio de la relación mencionada.

El esquema de síntesis descripto para cada caso es el producto de diversas modificaciones realizadas sobre el esquema original, consiguiendo un mayor rendimiento de reacción y, en algunos casos, una simplificación del procedimiento.

Una vez realizada la síntesis se recurrió a una serie de controles del producto final. No sólo se realizó la determinación del punto de fusión y la composición centesimal, sino que se confirmó cada estructura por espectroscopía de masa y resonancia magnética nuclear.

El paso siguiente fue la obtención del bis complejo por marcación con Tc-99m; ésto se realizó siguiendo el procedimiento que es habitual en la preparación de radiofármacos de Tc-99m: reacción de la solución de NaTcO<sub>4</sub>-Tc-99m con una solución conteniendo el agente quelante, o sea el derivado del ácido iminodiacético y el agente reductor, cloruro estannoso.

También en este caso se implementaron controles para el complejo marcado, que consistieron en la determinación de la pureza radioquímica por cromatografía. En este punto nos encontramos con diversas cromatografías publicadas para este fin que, sin embargo, no siempre daban resultados concordes con el comportamiento biológico.

Se desarrollaron una serie de cromatografías (Tabla 16) de las cuales se adoptó un par que, además de ser simple, se adapta a todos los compuestos en estudio.

A posteriori se siguieron una serie de pasos tendientes a permitir el uso de estos complejos en seres humanos, ya que potencialmente algunos de ellos resultaban de utilidad clínica, como sucedió finalmente con el Mebrofenin, que luego de los estudios correspondientes entró en producción y actualmente se comercializa a través de la CNEA.

Se realizaron los controles farmacológicos que indica la Farmacopea Argentina y además se determinó la DL50 (Tabla 22) para la determinación de los factores de seguridad en el uso en humanos (Tabla 23).

Entrando de lleno en el estudio radiofarmacológico de los complejos se llevó a cabo el estudio de la cinética plasmática por el método de la circulación extracorpórea.

Este método, aunque desarrollado hace muchos años, ha sido muy pocas veces aplicado al campo de la radiofarmacología. También resulta novedoso y representa un verdadero aporte el algoritmo desarrollado (Tabla 2) para la determinación de las componentes cinéticas, que aunque nosotros consideramos un sistema de dos compartimentos, representado por una cinética biexponencial, permite trabajar en sistemas con  $n$  compartimentos.

Los resultados obtenidos (Tabla 24) permiten una primera aproximación a la comparación entre estos complejos. Allí surge claramente que el HIDA 10 presenta un comportamiento notablemente diferente, "más lento", a todos los demás, lo que sería corroborado luego en las demás experiencias.

Con respecto a la biodistribución, se utilizó el método de pinzado coledocal en ratones, método poco utilizado por otros equipos de trabajo, que nos permitió evaluar la cantidad de radiofármaco concentrado en bilis.

En las curvas de biodistribución se destaca que no se pretendió en ningún momento establecer parámetros que indicaran la masa o concentración del agente en estudio, sino más bien establecer un criterio farmacocinético, más que farmacológico en el tratamiento de estas curvas.

De la observación de estas curvas surge claramente que todos los derivados estudiados, salvo el HIDA 7, presentan pasaje a través de la vesícula biliar. La diferencia entre ellos radica en la velocidad de este pasaje (Tabla 25) y la excreción renal.

Para realizar una comparación más adecuada agrupamos los derivados con los mismos sustituyentes en el anillo bencénico. Así comparamos el HIDA 3 y el 5 (Tabla 26), encontrando un tránsito hepatobiliar similar, y una menor excreción renal en el HIDA 5.

Resultados similares se observaron en la comparación entre el HIDA 4 y el 6, siendo en este caso menor la excreción renal para el HIDA 4.

Estos datos concuerdan con los valores del poder lipofílico (Tabla 36), que son semejantes.

Evidentemente la variación en el peso molecular tuvo una muy ligera incidencia en la biodistribución.

Pero si comparamos el HIDA 6 con su isómero, el HIDA 7, vemos que en este caso, en concordancia con lo observado por Chiotellis, se anuló la posibilidad de excreción biliar al aumentar la distancia entre los grupos carbonilo y amino.

Observando las curvas de biodistribución de los halogenados encontramos que la inclusión del halógeno en el anillo bencénico acentúa las propiedades biológicas de los derivados. Se observa una más rápida captación hepática y rápido tránsito a través de la vesícula biliar. Es de destacar, además, la disminución de la excreción renal. El halógeno no sólo introduce un cambio en el peso molecular del compuesto, sino que produce una variación en el poder lipofílico, esto se hace evidente cuando comparamos el HIDA 2 con el Iodo-

dietil-IDA.

En el estudio de las rutas metabólicas se observó que en todos los casos la reinyección de la orina produce un tránsito anormal del compuesto, éste es captado en menor proporción por el hígado y es casi totalmente excretado en orina. En cambio la reinyección de la bilis no cambia la captación hepatobiliar y en algunos casos la incrementa.

Entonces podemos decir que existen dos vías de metabolización. Una permite que el complejo transite hacia la vesícula biliar, previo pasaje por el hepatocito, mientras que la otra produce la excreción renal.

Los estudios en seres humanos tuvieron por objeto implementar un protocolo de trabajo que permitiera la validez de la comparación entre dos derivados diferentes y además la corroboración de las experiencias previas en animales, ya que esto es decisivo para el diseño de cualquier radiofármaco. Además con el estudio en casos patológicos se pudo observar la influencia que tiene la inclusión del halógeno en la competencia con la bilirrubina. Aunque el trabajo en animales tiene limitaciones se ha podido establecer una buena correlación entre los distintos modelos utilizados y la posterior extrapolación a seres humanos.

## CONCLUSIONES

La radiofarmacología es la ciencia que estudia los mecanismos de distribución y acción de los radiotrazadores en un ser vivo. Podemos decir que es una de las ramas de la farmacología, pues evalúa las fases de acción de los radiotrazadores y de las moléculas orgánicas e inorgánicas que los contengan, es decir los radiofármacos. Dichas fase son la farmacocinética y la farmacodinámica; en la primera están involucrados los mecanismos de transporte, forma y vías de absorción y mecanismos de metabolización y/o excreción. La segunda comprende los mecanismos de interacción radiotrazador-órgano blanco. Para la evaluación de estas etapas la radiofarmacología se vale de los denominados modelos biológicos, en los cuales determina la eficacia de un radiotrazador o radiofármaco. Esta tesis pretende encuadrarse dentro de la competencia de la radiofarmacología.

En general en los distintos trabajos publicados sobre los derivados del ácido iminodiacético el objetivo perseguido es la obtención de un radiofármaco, para vías biliares, lo más cercano como sea posible al radiofármaco ideal. Es por ello que las comparaciones se basan en su comportamiento in vivo, tendientes a decidir cual es el mejor, o cual se adapta mejor a las distintas patologías, o cual es el más versátil.

No fue la intención, al plantear este trabajo, intervenir en el campo de esta discusión, sino que el objetivo al realizarlo fue delinear una serie de pasos o procedimientos que ayuden en el futuro para el diseño de un radiofármaco, para éste o cualquier otro sistema en estudio, que cumpla con las características fisicoquímicas y biológicas necesarias.

Elegimos algunos de los derivados conocidos y hemos sintetizados otros que no fueron usados nunca en diagnóstico. En el caso del HIDA 5 en un principio se diseñó para mejorar el HIDA 3, desde el punto de vista diagnóstico, luego se comprobó en los modelos animales y en humanos voluntarios que no aportaba ninguna ventaja. Sin embargo nos permitió estudiar hasta que punto el cambio en el peso molecular influía en su comportamiento. Además este antecedente nos sirvió como para sintetizar el HIDA 6, análogo del HIDA 4 y el HIDA 7 isómero de aquél. Aquí pudimos estudiar el cambio que se produce en el comportamiento biológico cuando es alterada la cadena que une la porción lipofílica y la hidrofílica.

Con la utilización de los derivados halogenados estudiamos la influencia que tiene la inclusión del halógeno en el anillo bencénico con respecto a la captación hepática y velocidad de pasaje a través de la vesícula biliar, como así también la excreción renal.

Nos quedaba por ver la influencia del cambio no ya de los sustituyentes del anillo bencénico, sino de este tipo de estructura y es así que se decidió la síntesis del HIDA 10, que al poseer dos anillos bencénicos no presenta similitudes en esa porción de la molécula con respecto a los demás.

BIBLIOGRAFIA

1. Arciprete C., Gros E. y Mitta A.E.A.  
Preparación de Tc-99m y derivados. Utilización en medicina nuclear.  
Acta Bioq.Clinica Latinoamericana. XV,4, 609, 1981.
2. Argüelles M.G., C.O.Cañellas, J.M.Knez y A.E.A.Mitta  
Síntesis y farmacocinética de dos nuevos derivados del ácido iminodiacético  
Acta Bioq.Clin.Latinoamericana XVIII,3, 417, 1983.
3. Becker J.M. y Fogel P.  
Early multiprojectional hepatic imaging in Tc-99m pipida cholescintigraphy  
J.Nucl.Med.22, 3, 290, 1981
4. Bobba V.R., Krishnamurthy G.T., Kingston E.  
Consistent parameters of normal biliary imaging: the role in the comparative assessment of Tc-99m labeled IDA derivatives.  
Nucl.Med. 2, 9, 1981.
5. Boyd R.E.  
Technetium-99m generators. The available options  
Int.J.Appl.Radiat.Isot.33, 801, 1982.
6. Budinger T.F.  
Instrumentation trends in nuclear medicine  
Sem.Nucl.Med.7, 285, 1977.
7. Burns H.D., Worley P., Wagner H.N., Marzilli L., Rich V.  
Design of technetium radiopharmaceuticals.  
The chemistry of radiopharmaceuticals. Edited by N.D. Henndel, H. D.Burns, T.Monda and L.W.Brandy.
8. Camuzzini G.F., D'Angelli B., Tortore P., Biggi A., Fari nelli M.C., Cagnassi S., Papaleo A., Assone F., Lunghi F., Plassio G.  
In vitro properties and clinical use of Tc-99m-3-bromo-2,4,6-trimethyl-IDA in sequential hepatobiliary scintigraphy  
J.Nucl.Med.All.Sci. 28, 3, 167, 1984
9. Cañellas C.O., Argüelles M.G., Knez J.M., Mitta A.E.A.  
Control de calidad de los N-derivados del ácido iminodiacético  
Acta Bioq.Clin.Latinoamericana XVIII, 3, 417, 1983.
10. Coates G., Garnett E.S., Webber G.E.  
Detection of deconjugation of biles salts  
Sem.Nucl.Med. 7, 99. 1982.
11. Cohen Y., Costerousse O., Chivot J.J.,  
Minerva Nucl. 8, 57, 1964.
12. Coupal J.J., Shih Wei-Jen, DeLand F.H.  
Resistance to in vivo re-oxidation of Tc-99m: an indicator of a superior hepatobiliary imaging agent  
Current applications in radiopharmacology



- Proceedings of the fourth international Symposium on Radiopharmacology, 1985.
13. Cox P.H.  
The comparative pharmacology of technetium IDA derivatives  
Progress in radiopharmacology, 1979.
  14. Chervu L.R., Nunn A.D., Loberg M.D.  
Radiopharmaceuticals for hepatobiliary imaging  
Sem.Nucl.Med. 12, 5, 1982
  15. Chia H.L., Fumagalli S., Peter F.  
Synthesis and quality control of Tc-99m diethyl-IDA  
Nucl.Compact 9, 15, 1978.
  16. Chiotellis E., Sawas-Dimopoulous C., Constantinides M.  
Tc-99m-HIDA, a gallbladder imaging agent  
Eur.J.Nucl.Med. 3, 41, 1978.
  17. Chiotellis E., Varvarigou A.  
Tc-99m-labelled N-substituted carbamoyl iminodiacetates:  
Relationship between structure and biodistribution.  
INT.J.Nucl.Med.Biol. 7, 1, 1980.
  18. Chiotellis E., Varvarigou A., Koutoulidis C.  
Comparative in vivo kinetics of some new Tc-99 m-labelled  
acetanilido iminodiacetates  
Eur.J.Nucl.Med. 6, 241, 1981.
  19. Del Campo A., Delgado F.  
Colecistitis aguda en patología quirúrgica  
Librería Médica Editorial, Montevideo, 19, 1980.
  20. Drum D.E.  
Current status of radiocolloid hepatic scintigraphy  
for space-occupying disease.  
Sem.Nucl.Med. 12, 64, 1982
  21. Dudczak R., Kletter K., Angelberger P., Frischauf H.  
Comparison of two different biliary agents in healthy  
subject and in patients with liver disease.  
Eur.J.Nucl.Med. 4, 365, 1979.
  22. Dudczak R., Angelberger P., Wagner-Loffler M., Kletter K.,  
Ferenci P., Frischauf H.  
I.A.E.A.-SM-247, 153.
  23. Eikman E.A.  
Radionuclide hepatobiliary procedures: when can HIDA help?  
J.Nucl.Med. 20, 358, 1979.
  24. Fields A.T., Porter D.W., Callery P.S., Harvey E.B.,  
Loberg M.D.  
Synthesis and radiolabelling of technetium radiopharmaceuticals based on N-substituted iminodiacetic acid:  
effect of radiolabeling conditions on radiochemical purity  
J.Lab.Comp.Radiopharm.15, 387, 1978.
  25. Fisher R.S. Malmud L.S.  
Functional scintigraphy: diagnostic applications in gastroenterology.  
Developments in digestive diseases. Chapter 8, 1980.

26. Fonda U., Padersen B.  
Tc-99m-Diethyl-IDA  
Eur.J.Nucl.Med. 3, 87, 1978.
27. Freitas J.E.  
Cholescintigraphy in acute and chronic cholecystitis  
Sem.Nucl.Med. 12, 18, 1982.
28. Fritzberg A.R.  
Pharmacology of Tc-99m hepatobiliary radiopharmaceuticals  
Current applications in radiopharmacology  
Proceedings of the fourth international symposium on  
radiopharmacology, 1985.
29. Fritzberg A.R., Huckaby D.  
Development and results of routine quality control pro-  
cedures for Tc-99m iminodiacetate hepatobiliary agents  
Radiopharmaceuticals II, 545, 1982.
30. Fritzberg A.R., Whitney W.P., Klingensmith W.C.  
Hepatobiliary transport mechanism of Tc-99m-N-(2,6 di-  
ethylacetanilide)-iminodicarboxylic acids.  
Radiopharmaceuticals II. Proceedings II International  
Symposium on Radiopharmaceuticals. 577, 1979
31. Fritzberg A.R., Lewis D.  
Reversed phase HPLC of Tc-99m iminodiacetate hepatobiliar  
agents and a question of multiple peaks.  
J.Lab.Comp.Radiopharm. 18, 153, 1981.
32. Fritzberg A.R., Lewis D.  
HPLC analysis of Tc-99m iminodiacetic hepatobiliary a-  
gents: concise communication.  
J.Nucl.Med. 21, 1180, 1980.
33. Galli G., Troncone L., Focacci C., Fedeli G., Anti M.  
Functional study with I-131 Rose Bengal in chronic active  
hepatitis and nonactive cirrhosis using a three-compart-  
ment model.  
Eur.J.Nucl,Med.11, 103, 1981.
34. Gelius L., Skretting A., Aas M.  
A mathematical model for the liver uptake and excretion  
of Tc-99m-diethyl IDA.  
Eur.J.Nucl.Med.11, 139, 1981.
35. Gliedman M.L., Wilk P.J.  
A surgeons view of hepatobiliary scintigraphy.  
SemNucl.Med. 12, 2, 1982.
36. Goel V.  
Meckel's diverticulum  
Sem.Nucl.Med. 12, 97, 1982.
37. Graves D.S., Stadalnik R.C.  
Anatomic and functional asplenia-absence of the splenic  
image during Tc-99m sulfur colloid scintigraphy  
Sem.Nucl.Med. 12, 95, 1982.
38. Green A., Rosenberg N., Sheaman M.  
Multicenter trial of Tc-99m disofenin iminodiacetic acid.  
A new hepatobiliary agent for imaging jaundiced and non  
jaundiced patients.

- J.Nucl.Med. 21, 18, 1980.
39. Hansen S., Stadalnik R.C.  
Liver uptake of Tc-99m pyrophosphate  
Sem.Nucl.Med. 12, 89, 1981.
40. Harvey E., Loberg M. Ryan J., Silorski S., Faith W.,  
Cooper M.  
Hepatic clearance mechanism of Tc-99m HIDA and its effect  
on quantitation of hepatobiliary function.  
J.Nucl.Med. 20, 310, 1979.
41. Hernandez M., Rosenthal L.  
A cross-over study comparing the kinetics of Tc-99m-label-  
ed diisopropyl and p-butyl IDA analogs patients.  
Clin.Nucl.Med. 5, 159, 1980.
42. Hernandez M., Rosenthal L.  
A cross-over study comparing the kinetics of Tc-99m-la-  
beled diethyl and diisopropyl IDA.  
Clin.Nucl.Med. 5, 352, 1980.
43. Herry J.Y., Brissot P., Lejeune J.J., Launois B., Bourel  
M.  
Evaluation of a liver transplant by Tc-99m dimethyl-IDA  
scintigraphy  
J.Nucl.Med. 21, 657, 1980.
44. Hunt F.C., Wilson J.G., Maddalena D.J.  
Structure-activity relationships for Tc-99m benzimida-  
xolyl methylimino-diacetic acid hepatobiliary radiophar-  
maceuticals  
J.Lab.Comp.Radiopharm. 18, 191, 1981.
45. Jansholt A.L., Scheibe P.O. Vera D.R., Krohn K.A.,  
Stadalnik, R.C.  
Correlation analysis of substituents effects on the  
pharmacokinetics of hepatobiliary agents.  
J.Lab.Comp.Radiopharm. 18, 198, 1981.
46. Jansholt A.L., Vera D.C., Krohn K.A., Stadalnik R.C.  
In vivo kinetics of hepatobiliary agents in jaundiced  
animals  
Radiopharmaceuticals II. Proceedings 2• International  
Symposium on Radiopharmaceuticals. 1979
47. Jovanović V., Konstantinovača D., Memedović  
Determination of radiochemical purity and stability of  
Tc-99m-diethyl-IDA  
Eur.J.Nucl.Med. 6, 375, 1981.
48. Kapuściński J., Liniecki J., Durski K., Elżbieta Mikicuk-  
Olasik  
Comparison in rabbits of chole-scintigraphic properties  
of several Tc-99m-IDA derivatives.  
Nucl.Med.25, 188, 1986.
49. Karube Y., Kono A., Maeda T., Ohya M., Matsushima Y.  
A new serie of Tc-99m labelled hepatobiliary tracers:  
N'-acyl and N'-sulfonyl ethylene diamine N,N-diacetic a-  
cids  
J.Nucl.Med. 22, 619, 1981.

50. Klingensmith III W.C., Fritzberg A., Koep L.  
Comparison of Tc-99m diethyl iminodiacetic acid and I-131 rose bengal for hepatobiliary studies in liver transplant patients  
J.Nucl.Med. 20, 314, 1979.
51. Klingensmith III W.C., Spitzer V.M., Fritzberg A.R., Kuni C.C.  
The normal fasting and postprandial diisopropyl-IDA-Tc-99m hepatobiliary study  
Radiology 141, 771, 1981.
52. Koutoulidis C., Chiotellis E., Lymberis C.  
Absorbed dose estimation of some Tc-99m hepatobiliary agents  
Eur.J.Nucl.Med. 4, 441, 1979.
53. Lamki L.  
A dichotomy in hepatic uptake of Tc-99m-IDA and Tc-99m-colloid  
Sem.Nucl.Med. 12, 92, 1982.
54. Loberg M.D.  
Radiolabeled drug analogs base on N-substituted iminodiacetic acid  
The chemistry of radiopharmaceuticals  
Edityd by Meindel N.D. 1978.
55. Loberg M.D., Cooper E.H., Callery P., Faith W.  
Development of new radiopharmaceuticals based on N-substitution of iminodiacetic acid  
J.Nucl.Med. 17, 633, 1976.
56. Loberg M.D., Fields A.T.  
Chemical structure of Tc-99m labeled iminodiacetic acid  
Int.J.Appl.Radiat.Isot. 29, 167, 1978.
57. Loberg M.D., Fields A.T.  
Stability of Tc-99m labeled N-substituted iminodiacetic acid: ligand exchange reaction between Tc-99m-HIDA and EDTA.  
Int.J.Appl.Radiat.Isot. 28, 687, 1977.
58. Lloyd Miller, Tainter M.L.  
Estimation of the ED-50 and its error by means of logarithmic probit graph-paper  
Science 79, 38, 1934.
59. Mitta A.E.A., Almeida C.A., Mollerach F., Gros E.G., Cañellas C.O., Arciprete C.P., Abella O., Argüelles M.G., Casal O.I., Crespo C.N., Abella M.T.R.  
Preparación, Control y Uso Intercomparativo de derivados del ácido iminodiacético. Disida (Ida 3)/ Ida 5.  
Acta Bioq.Clin.Latinoamericana XVIII, 4, 651, 1984.
60. Molter M., Kloss G.  
Properties of various IDA derivatives  
J.Lab.Comp,Radiopharm., 56,1981.
61. Molter M., Kloss G.  
Studies of the pharmacokinetics of various Tc-99m-IDA derivatives.  
J.Lab.Comp.Radiopharm., 196, 1981.

62. Nicholson R.W., Herman K.J., Shields R.A., Testa H.J.  
The plasma protein binding of HIDA.  
Eur.J.Nucl.Med. 5, 311, 1980.
63. Nicholson R.W., Herman K.J., Shields R.A., Testa H.J.  
The preparation and composition of HIDA.  
Eur.J.Nucl.Med. 5, 313, 1980.
64. Nielsen S.P., Trap-Jensen J., Lindenberg J., Lykkegaard  
Nielsen M.  
Hepatobiliary scintigraphy and hepatography with Tc-99m  
Diethyl-acetanilido-iminodiacetate in obstructive jaundice  
J.Nucl.Med., 19, 452, 1978.
65. Nielsen P., Rasmussen F.  
Relationships between molecular structure and excretion of  
drugs.  
Life sciences 17, 1495, 1979.
66. Nunn A.D.  
Preliminary structure-distribution relationships of Tc-99m  
hepatobiliary agents. Protein binding of HIDA's.  
J.Lab.Comp.Radiopharm. 18, 155, 1981.
67. Nunn A.D.  
Analysis of Tc-HIDA and factors affecting their labelling  
rate, purity and stability.  
J.Nucl.Med. 22, 52, 1981.
68. Nunn A.D., Loberg M.D., Conley R.A.  
A structure distribution relationship approach leading to  
the development of Tc-99m-Mebrofenin: an improved choles-  
cintigraphic agent.  
J.Nucl.Med. 24, 423, 1983.
69. Pawels S., Steels M., Piret L., Beckers C.  
Clinical evaluation of Tc-99m-diethyl-IDA in hepatobilia-  
ry disorders.  
J.Nucl.Med. 19, 783, 1978.
70. Pawels S., Piret L., Schoutens A., Vandermoten G.,  
Beckers C.  
Tc-99m-diethyl-IDA imaging: clinical evaluation in jaun-  
diced patients.  
J.Nucl.Med. 21, 1022, 1980.
71. Pawels S., Feitman R., Vermey P.  
Composition of Tc-99m-HIDA as a function of time after  
kit preparation.  
Eur.J.Nucl.Med. 6, 433, 1981.
72. Pedersen S.A., Oster-Jorgensen E. Schoubye J.  
Hepatobiliary scintigraphy with Tc-99m-HIDA and sulphur  
colloid  
Eur.J.Nucl.Med. 5, 305, 1981.
73. Person R., Strand S.E.  
Proc of Symposium on new developemnts in radiopharmaceu-  
ticals and labelled compounds. IAIEA, Copenhagen, Denmark,  
169, 1973.

74. Popescu H.I.  
Hepatic clearance mechanism of Tc-99m-N-(acetanilido)-iminodiacetic acid derivatives  
J.Nucl.Med.21, 1110, 1981.
75. Romai P.M.  
Hepatobiliary radiopharmaceuticals: defining their clinical role will be a galling experience.  
J.Nucl.Med. 18, 488, 1977.
76. Rosenthal L.  
Cholescintigraphy in the presence of jaundice utilizing Tc-IDA.  
Sem.Nucl.Med. 12, 53, 1982.
77. Rosenthal L., Fonseca C., Arzoumanian A., Hernandez M., Greenberg D.  
Tc-99m-IDA hepatobiliary imaging following upper abdominal surgery  
Radiology 130, 735, 1979.
78. Ryan J., Cooper M., Loberg M., Harvey E., Sikorski S.  
Tc-99m-labeled iminodiacetic acid: a new radiopharmaceutical for hepatobiliary imaging studies  
J.Nucl.Med. 18, 996, 1977.
79. Schanker L., Solomon H.M.  
Active transport of quaternary ammonium compounds into bile  
Amer.J.Physiol. 204, 829, 1963.
80. Sheppard Galton  
The method of probits  
Science, 409, 1934.
81. Smith R.B., Coupal J., DeLand F.H., Triplett W.  
Pharmacokinetics of hepatobiliary imaging agents in rats  
J.Nucl.Med. 20, 45, 1979.
82. Subramanian G.  
Kyoto 1984, IAEA, Programa de investigación coordinado sobre "Development of new radiopharmaceuticals"
83. Tjen H.S., Van der Pompe W.B., Cox P.H.  
Tc-99m labelled diethyl-acetanilido-iminodiacetate: new hepatobiliary agent  
British J.Radiol. 50, 735, 1977.
84. Torolo G.L., Picozzi R., Palagi B., Cammelli f.  
Comparative quantitative evaluation of hepatic clearance of diethyl-IDA and p-butyl-IDA in jaundiced and non jaundiced patients.  
Eur.J.Nucl.Med. 6, 539, 1981.
85. Trevan W.  
The error of determination of toxicity  
Proc.Roy.Soc.London 101, 483, 1927.
86. Van Wyk A.J., Fourier P.J., Van Zyl W.H., Lotter M.G., Minnaar P.C.  
Synthesis of five new Tc-99m-IDA isomers and comparison with Tc-99m-HIDA.  
Eur.J.Nucl.Med. 4, 445, 1979.

87. Vera D.R., Krohn K.A., Stadalnik R.C.  
Radioligands that bind to cell-specific receptors:  
hepatic binding protein ligands for hepatic scintigraphy  
Radiopharmaceuticals II. Proceedings 2. International  
Symposium on Radiopharmaceuticals, 565, 1979.
88. Waxman A.D.  
Scintigraphy evaluation of diffuse hepatic disease  
Sem.Nucl,Med. 12, 75, 1982.
89. Weininger J., Trumper J., Lubin E., Cohen M., Sadeh T.,  
Juszinsky M.  
Technetium 99m-BIDA  
IAEA-SM-247/152, 459, 1980.
90. Weissmann H.S., Frank M., Rosenglatt R., Goldman M.,  
Freeman L.  
Cholescintigraphy, ultrasonography and computerized tomography  
in evaluation of biliary tract disorders  
Sem.Nucl.Med. 9, 3, 1979
91. Weissmann H.S., Gliedman M.L., Wilk P.J., Sugarman L.A.  
Badia J., Guglielmo K., Freeman L. M.  
Tc-99m-IDA cholescintigraphy  
Sem.Nucl.Med. 12, 27, 1982.
92. Weissmann H.S., Sugarman L.A., Freeman L.M.  
The clinical role of technetium-99m iminodiacetic acid  
cholescintigraphy  
Nucl,Med. Annual 1981, edited by L.M.Freeman and M.S.  
Weissmann. Raven Press, New York, 35, 1981.
93. Wistow B.W., Subremanian G., Gagne G., Henderson R.H.,  
McAfee G., Hall R.c., Grossman Z.D.  
Experimental and clinical trials of new Tc-99m-labeled  
hepatobiliary agents  
Radiology 128, 793, 1978.
94. Weissmann M.S., Frank M.S., Bernstein L.M., Freeman L.M.  
Rapid and accurate diagnosis of acute cholecystitis with  
Tc-99m-HIDA cholescintigraphy  
Amer.J.Radiology 132, 523, 1979
95. Weissman H.S., Badia J.D., Hall T., Sugarman L.A.,  
Freeman L .M.  
Tc-99m diisopropyl iminodiacetic acid: the best overall  
cholescintigraphy radionuclide for the evaluation of  
hepatobiliary disorders  
J.Nucl. Med.21, 18, 1980.
96. Yokoyama A.  
Kyoto 1984, IAEA, Programa de investigación coordinado  
sobre "Development of new radiopharmaceuticals"
97. Zivanovic M., Taylor D., Mc Cready R., Meller S.T.  
The stability and distribution of Tc-99m-HIDA in vivo and  
in vitro  
Eur.J.Nucl.Med. 4, 369, 1979.