

**TESIS PREMIADA ESCUELA QUIMICA FARMACEUTICA****PRODUCCION DEL RADIOFARMACO NANO-COLOIDE  
DE ALBUMINA MARCADO CON  $^{99m}\text{Tc}$  PARA ESTUDIOS  
CENTELLOGRAFICOS DEL SISTEMA LINFATICO Y MEDULA OSEA**Alba Evelia González Alvarado de Torres<sup>1</sup>  
Claudia María Quintero Jordán<sup>2</sup>**I. SUMARIO**

El objeto del presente trabajo fue realizar la producción, de un nuevo radiofármaco, para la detección de cáncer, el control de calidad por medio de la pureza radioquímica, control microbiológico y calidad organoléptica, evaluar la biodistribución en ratas y comprobar su estabilidad.

El fármaco NANO-COLOIDE DE ALBUMINA, se marcó con  $^{99m}\text{Tc}$ . La biodistribución se evaluó en ratas albinas y los resultados se sometieron a un análisis de varianza de una vía y comparaciones múltiples.

**II. INTRODUCCION**

La producción de radiofármacos protéicos como el Nano-coloide de albúmina marcado con Tecnecio  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , para su utilización en centellografías, tanto de la médula ósea, como del sistema linfático, adquiere relevancia en Guatemala, pues no se cuenta con este tipo de radiofármacos que permita usarlo en estudios linfográficos y médula ósea.

**III. MATERIALES Y METODOS****RECURSOS MATERIALES:****Equipo:**

Liofilizadora (Lab-Conco), balanza analítica (Metler AE 100), potenciómetro (Fisher), campana de flujo laminar horizontal (Lab-Conco), autoclave (Fisher), refrigeradora (Cetron), computadora (ADC), impresora (EPSON), radiocromatógrafo (Berthold), contador tipo seco de centelleo sólido con cristal de yoduro de sodio activado con Talio (Ortek), incubadora (Lab-Conco), balanza para animales de laboratorio (Metler),

calibrador de dosis con detector tipo gaseoso (Victoreen), plancha agitadora con calefacción (Fisher).

**Materiales:**

Jeringa de 1 y 5 cc, agujas números 21 y 23, filtros millipore de 0.22 y 0.45  $\mu\text{m}$  de diámetro (Sartorius), viales de vidrio de borosilicato tipo 1 de color ámbar, tapones para liofilizar, etiquetas, frascos tipo Pyrex de 250 mililitros, tubos de ensayo, selladora, varillas de agitación, vidrios de reloj, beaker de 150 ml, algodón, tijeras, equipo de disección, jaulas para ratas, cubas cromatográficas, papel cromatográfico ITLC impregnado con sílica gel (Gelman).

**REACTIVOS:**

Cloruro estanoso dihidratado (Merck), ácido clorhídrico, agua destilada aprotogenada, hidróxido de sodio, buffer de fosfatos, glucosa 40%, sero albúmina humana (HSA), nitrógeno gaseoso, generador de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  -  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (Amersham), caldo tripticasa soya (BBL), caldo tioglicolato (BBL), agar Sabouraud (BBL).

**PROCEDIMIENTO****Producción:**

Equipo nano-albúmina para 100 ampollas.  
Se prepararon las siguientes soluciones:

- 1) Solución Stock de estaño:  
 $43.58 \text{ mg Sn}_2\text{H}_2\text{O} + 2.08 \text{ ml HCl } 1.0 \text{ N} + \text{H}_2\text{O}$   
destilada aprotogenada  $18.75 \text{ ml} + \text{H}_2\text{O}$   
Se agitó 10 minutos y filtró en millipore 0.22  $\mu$ .
- 2) Solución de albúmina:  
 $10 \text{ ml Solución stock de estaño} + 0.5 \text{ ml HSA } 20\%$   
 $23.33 \text{ ml H}_2\text{O}$  destilada aprotogenada.  
 $\text{pH} = 2.89$  (o menos).

<sup>1</sup> Licenciada Química Farmacéutica

<sup>2</sup> Licenciada Química Bióloga. Radiofarmacia, Dirección General de Energía Nuclear.

3) Punto Crítico:  
20.83 ml NaOH 0.1 N. Se agregó rápidamente con agitación para evitar pasar por su punto isoelectrico que es a 4.9 para evitar su desnaturalización.

- pH = 9.9 se adicionó  $\pm$  2.71 ml 0.1 N HCl hasta obtener pH = 7.38 (entre 7.36 - 7.40) este pH es el ideal para la Nano-albúmina.

Se obtuvo un volumen de  $\pm$ 58.33 ml que se dividió en cuatro partes en erlenmeyer diferentes y con agitador.

Por aparte se colocó en un erlenmeyer 140 ml de H<sub>2</sub>O destilada aspirógena a calentar a 96°C con un termómetro dentro de ella.

Al llegar a los 96°C (punto crítico) se agregó rápidamente los 68.33 ml de albúmina, en este momento la temperatura bajó y entonces se contó cada 15 minutos a que la temperatura suba a 90.5°, esto es  $\pm$ 2 minutos (se puso cronómetro).

A los 90.5°C se sacó la solución y se pasó rápidamente a un baño de hielo (H<sub>2</sub>O + hielo) y se agitó fuerte, al estar a temperatura ambiente se esperó una hora dejando la solución en reposo.

A la solución se le adicionó 3.75 ml glucosa 40% + 10 ml buffer de fosfatos pH 7.4.

Se filtró en filtro millipore 0.45  $\mu$ m y en filtro millipore 0.22  $\mu$ m.

Se dispensó 2 ml por vial, se liofilizó.

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSION**

##### **FORMULACION.**

Después de la producción del Nanocoloide de Albúmina se procedió a marcarlo con 99mTc, se efectuaron controles:

##### **CONTROL DE CALIDAD EN LA PRODUCCION DEL NANOCOLOIDE.**

###### **1) Control Microbiológico:**

Se sembró 0.1 ml del radiofármaco reconstituido; reportándose ningún crecimiento microbiano.

###### **2) Pureza Radioquímica:**

Por el método de cromatografía en papel, obteniéndose un 99.28% de porcentajes de marcación.

##### **BIODISTRIBUCION EN SISTEMA LINFATICO Y MEDULA OSEA.**

Se utilizaron dieciséis ratas albinas, distribuidas en dos grupos de ocho ratas.

###### **Sistema Linfático:**

Los resultados de biodistribución fueron de 97.74%, se encontró que si existe diferencia significativa en la biodistribución mediante la prueba de Dunnett.

###### **Médula Osea:**

No existe diferencia significativa entre la cantidad de radiofármaco presente en hueso, pulmón y sangre, así mismo se determinó que la cantidad de radiofármaco presente en estos órganos es menor respecto a hígado y bazo.

###### **ESTABILIDAD:**

A 4°C respecto al tiempo, hubo una leve disminución en el primero (92.547%) y segundo mes (94.776%).

Utilizando el método de cromatografía en papel y midiendo la radioactividad con un contador de centelleo tipo pozo. Los porcentajes de marcación son satisfactorios ya que fueron superiores al 90%, según la Farmacopea Argentina.

El control microbiológico fue satisfactorio ya que no se encontró crecimiento bacteriano en los medios de cultivo.

En el sistema linfático de ratas, con la prueba de Dunnett se observó que sí existe diferencia en cada órgano y el control.

Con los datos obtenidos del estudio de la biodistribución en médula ósea de ratas, existe diferencia significativa entre bazo e hígado con el control hueso, pero no existe diferencia significativa entre pulmón y sangre contra el control hueso.

Al realizar las pruebas de estabilidad acelerada,

al evaluar el efecto de la temperatura en los porcentajes de marcación, se observó que hay tendencia por mantenerse en 90%, por lo que no permite dar una fecha de vencimiento para el radiofármaco.

### V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados de la marcación del NANO-COLOIDE DE ALBUMINA, fue mayor del 90%.

En el sistema linfático, se concluye que sí existe diferencia significativa ( $P < 0.05$ ), la biodistribución en los diferentes órganos, con respecto al sistema linfático es mayor que en todos los demás órganos.

En médula ósea, se demostró que existe diferencia significativa entre bazo e hígado contra el grupo control (hueso), pero la cantidad de radiofármaco presente en hueso es igual a la de pulmón y sangre.

Es necesario almacenar el radiofármaco, a 4°C para su estabilidad durante tres meses, no se logró a 25°C ó 37°C.

Se recomienda la realización de otro estudio con ratas enfermas, para obtener una información cuantitativa en hueso y nódulos linfáticos.

Respecto al estudio de estabilidad acelerada, realizarlo durante un año, ya que el fármaco no envejece durante los cuatro meses de análisis.

Es necesaria una mayor investigación, para su aplicación en pacientes, actualmente sólo se ha hecho en ratas.

### VI. AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio de Radiofarmacia de la Dirección General de Energía Nuclear, tanto al personal profesional como técnicos por su valiosa colaboración.

### VII. REFERENCIAS

1. Jánoki GA. Documento Técnico. "Frédéric Jdriot-Curie: National Research Institute for Radiobiology and Radiohygiene. Budapest, Hungary 1957. Producción de Nano-coloide. 1992.
2. Mitta A. Valor de la Linforentellografía en el Cáncer de Mama. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, vol. XXVIII, No. 1, 117-124, 1989. (p.117-123).
3. Valenzuela H, et al. Utilidad de la Gammagrafía Medular con Nanocoloides como complemento de la Gammagrafía ósea en Cáncer de Mama. Rev. Esp. Med. Nud. 1995; XIV:3
4. Brobeck J. Bases Fisiológicas de la Práctica Médica. 10a Ed. México: Médica Panamericana. 1982. (p.726-733)
5. George G. Medicina Interna 5ta. Ed. en español. Científicas. La Prensa Médica Mexicana. México 1984. Tomo II Cap. 252 p.1575-1576; Tomo I Cap. 62 p. 353; Tomo II Cap. 311 p. 1979-1987.
6. Saha GB. Fundamentals of Nuclear Pharmacy. 3rd. Ed. 1992 USA. Springer-Verlaq (p.273-275).
7. Mallo Escobar J. Radiofarmacia. Ed. Interamericana-Mc Graw Hill Madrid 1989. p. 41
8. Horiuchi K, et al. Tc(v)-DMS tumor imaging agent: Tc complexes dissociation equilibria a relevant factor in tumor localization. Technetium in Chemister and Nuclear Medicine 2. NY. Cortina International-Verona Raven Press. 1980. p. 155-159
9. The United States Pharmacopeia. Twenty-first Revision Official from January 1, 1985. The National Formulary sixteenth Edition. USP XXI. p.1279-1282
10. Farmacopea de los Estados Unidos Mejicanos. 5ta. Ed. Secretaria de Salud. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mejicanos. México 1988. p.60-61