



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**“SÍNTESIS DEL RADIOTRAZADOR [^{18}F]FES
PARA USO DE LA TECNOLOGÍA PET EN EL
DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO
OPORTUNO DEL CÁNCER DE MAMA EN LA
POBLACIÓN MEXICANA”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERA QUÍMICA
P R E S E N T A:
ANA GABRIELA GUTIÉRREZ MATA

ASESORA: M. en C. MARÍA DEL ROSARIO RODRÍGUEZ HIDALGO

COASESORA: QFB. YARA MARÍA ALCALÁ MARTÍN DEL CAMPO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
 UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U.N.A.M.
 ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
 PRESENTE



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Síntesis del radiotrazador 18F [FES] para uso de la tecnología PET, en el diagnóstico y tratamiento oportuno del cáncer de mama en la población mexicana

Que presenta la pasante: Ana Gabriela Gutiérrez Mata

Con número de cuenta: 407073854 obtener el Título de: Ingeniera Química

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 08 de febrero de 2012.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Adolfo Eduardo Obaya Valdivia	
VOCAL	Dr. Eligio Pastor Rivero Martínez	
SECRETARIO	M. en C. María del Rosario Rodríguez Hidalgo	
1er SUPLENTE	M. C. Juana Cabrera Hernández	
2do SUPLENTE	I. Q. Paula Álvarez Fernández	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
 HHA/pm



Sabia virtud de conocer el tiempo,
a tiempo amar y desatarse a tiempo.
Como dice el refrán: dar tiempo al tiempo,
que de amor y dolor alivia el tiempo.

Aquél amor a quién amé a destiempo,
martirizándome tanto y tanto tiempo.
Que no sentí jamás correr el tiempo,
tan acremente como en ese tiempo.

Amar queriendo como en otro tiempo
ignoraba yo aún que el tiempo es oro.
Cuanto tiempo perdí, ¡Ay, cuanto tiempo!

Y hoy que de amores ya no tengo tiempo,
amor de aquellos tiempos cuanto añoro,
la dicha inicua de perder el tiempo.

Sabia virtud, de conocer el tiempo. . .

Renato Leduc



AGRADECIMIENTOS

Quiero retribuir al **Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (ICyTDF)** por su apoyo y colaboración para llevar a cabo este proyecto de Tesis.

Por el interés que demuestra por cumplir un propósito que involucra la evolución y la calidad científica de México y por ende la del mundo.

Por la capacidad de investigación, dedicación y sobre todo en el compromiso por consumir los objetivos.

Y por no dejar de lado la superación de los estudiantes de Licenciatura como yo.

¡Muchas Gracias!





AGRADECIMIENTOS

A mi asesora **M. en C. María del Rosario Rodríguez Hidalgo**, quiero agradecer enormemente su confianza, su tiempo y su sinceridad hacia mi persona. Por las palabras de motivación y darme consejos al no claudicar por mis sueños profesionales y personales. Por darme apoyo moral y entender que cuando no salen las cosas no es el fin, es el comienzo de algo mejor. Es un placer haber trabajado con usted, como su alumna, como parte de su equipo de trabajo en el servicio social y ahora en este trabajo de Tesis. ¡Cuenta conmigo siempre!

A mi coasesora **Q.F.B. Yara María Alcalá Martín del Campo**, agradezco su apoyo para elaboración de ésta Tesis, que es un tema innovador y que garantiza ser un avance para México. De igual forma a la empresa JUAMA S.A de C.V. Por darme la oportunidad de concluir mi Licenciatura de esta manera, por su franqueza, su amabilidad, por los ratos de buen humor y, por todas las facilidades que me dio para lograr mi más grande sueño. Siempre estaré agradecida.

A mi colega **I.Q. Paulina Munguía**, ha sido un placer trabajar a tu lado. Haz sido un gran apoyo para mí. Por tu dedicación, por siempre salir adelante y por muchas cosas más, ésta tesis está concluida. A pesar de las adversidades, estoy segura que para las dos nos espera un mundo mejor.

A los miembros del jurado por los consejos, el apoyo y ánimo que me brindaron, por su atenta lectura, por sus comentarios en todo el proceso de elaboración de la Tesis y sus atinadas correcciones.

Ana Gabriela Gutiérrez Mata
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"



DEDICATORIAS

A mis padres:

Arturo Gutiérrez González y Patricia Mata Espinosa, sin su apoyo, sus consejos y sus correctivos tan a tiempo, jamás hubiera podido obtener esta enorme satisfacción, esto es de los tres, unidos lo logramos y juntos lo vamos a disfrutar. Será una nueva etapa para nosotros este año y con cariño disfrutaremos esos cambios. Papis: nunca podré pagarles éste goce que ahora siento. LOS AMO CON TODO MI CORAZÓN.

A mis hermanos y los suyos:

Alberto y Karina por su compañía a lo largo de mi vida y demostrarme que cuando existe la confianza, unión, y respeto, un hermano también es un gran amigo. Saben que siempre podrán contar conmigo y también sus familias. Espero que nunca cambie esto. LOS ADORO CON TODA MI ALMA.

A mi mejor amigo:

I.Q. José Pablo López Gómez. Aunque ahora no caminemos juntos, siempre estás a mi lado en los momentos más importantes de mi vida. Que a pesar de ir en contra de la distancia terrenal, siempre hay tiempo para seguir cosechando nuestra amistad. TE QUIERO MUCHO AMIGO.

A mi apoyo incondicional:

I.Q. Francisco Javier Hernández Moreno, gracias por los momentos divertidos, tu compañía día a día, siempre me regalas una sonrisa, tú franqueza, tu amistad absoluta y tu cariño ilimitado. GRACIAS POR TODO.

A mis amigos:

A todos mis compañeros y amigos de la carrera. A mis grandes cómplices. A mis mejores amigas de la preparatoria. Nunca me fallan en momentos de locura, llenan de humor mi vida, deleitan mis noches de vigilia. APRECIO SU COMPAÑÍA.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** y a la **Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán**, así como a su personal docente, que gracias a su decisión de hacer y creer en un México mejor, ahora puedo concluir esta etapa de mi vida.

Con cariño, admiración y respeto:

Ana Gabriela Gutiérrez Mata

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"



ÍNDICE

	PÁG.
▪ Agradecimientos.	3
▪ Dedicatorias.	5
▪ Índice.	6
▪ Índice de tablas, figuras y diagramas.	9
▪ Glosario de términos.	13
▪ Introducción	18
▪ Objetivo General.	19
▪ Objetivo Particular.	19
▪ Resumen.	20
1. Capítulo I. “Antecedentes”.	
1.1. Antecedentes del proyecto.	22
1.1.1. Antecedentes Clínicos.	22
1.1.2. Antecedentes Técnicos.	25
1.2. Tecnologías orientadas al diagnóstico de cáncer.	27
1.2.1. Análisis de las tecnologías de diagnóstico de cáncer.	31
1.3. Descripción general de la Tecnología PET.	35
1.3.1. Evolución de la Tecnología PET.	35
1.3.2. Bases Técnicas para la aplicación de la Tecnología PET.	39
1.3.3. Aplicaciones de la Tecnología PET.	47
1.3.4. La Tecnología PET en el futuro.	47
2. Capítulo II. “Generalidades del método de síntesis y purificación del radiofármaco”.	
2.1. Descripción general del método de síntesis.	49
2.1.1. Proceso general de la síntesis química de [¹⁸ F]FES.	50
2.2. Descripción técnica de los equipos utilizados.	51
2.3. Proceso de síntesis química del radiotrazador.	59
2.3.1. Características de los reactivos.	59
2.3.2. Características de la reacción.	61
2.3.3. Características de un proceso de síntesis automatizada.	62
2.4. Métodos de purificación.	63
2.4.1. Pruebas de purificación.	63



3. Capítulo III. “Descripción técnica de la síntesis del radiofármaco [¹⁸F]FES”.	
3.1. Generalidades de la síntesis química del radiofármaco.	65
3.2. Procedimiento de la síntesis	66
3.2.1. Producción del ión [¹⁸ F] Fluoruro.	66
3.2.2. Preparación del reactivo [¹⁸ F] KF/kryptofix – 222.	68
3.2.3. Síntesis del radiofármaco [¹⁸ F]FES.	72
3.2.4. Purificación del [¹⁸ F]FES.	73
3.2.5. Formulación del [¹⁸ F]FES.	74
3.2.6. Eficiencia y perfeccionamiento de la síntesis.	74
4. Capítulo IV. “Descripción técnica de los métodos generales de análisis para la purificación del radiofármaco [¹⁸F]FES”.	
4.1. Análisis de control de calidad.	77
4.1.1. Pureza e identidad radioquímica	77
4.1.1.1. Procedimiento para determinar la identidad radioquímica.	78
4.1.2. Identidad radioquímica.	80
4.1.3. Identidad del radionúclido.	80
4.1.4. Pureza del radionúclido.	81
4.1.4.1. Procedimiento para determinar la pureza del radionúclido.	81
4.1.5. Pureza química.	82
4.1.6. Actividad específica.	82
4.1.7. Solventes orgánicos residuales.	83
4.1.7.1. Procedimiento para el análisis de solventes orgánicos residuales.	84
4.1.8. Kryptofix residual.	85
4.1.8.1. Procedimiento para preparación de reactivos.	85
4.1.8.2. Procedimiento para prueba de mancha del kryptofix – 222.	86
4.1.9. Determinación del pH.	87
4.1.10. Color y turbiedad.	87
4.1.11. Prueba de pirógenos.	87
4.1.11.1. Procedimiento para prueba de pirógenos.	88
4.1.12. Prueba de esterilidad.	88
4.1.12.1. Procedimiento para prueba de esterilidad.	90
4.1.13. Prueba de estabilidad del producto.	91
4.1.13.1. Procedimiento para la prueba de estabilidad.	92
4.1.14. Prueba de integridad del filtro estéril.	92
4.1.14.1. Procedimiento para prueba de integridad del filtro estéril.	92
4.2. Administración del Producto.	92



5. Capítulo V “Resultados”	
5.1. Presentación de resultados.	96
5.2. Análisis de resultados.	106
6. Capítulo VI: “Conclusiones”.	
6.1. Conclusiones.	109
▪ Anexos.	
A. Especificaciones técnicas de los equipos.	110
B. Métodos generales de análisis basados en la Farmacopea de México.	116
C. Estudio de Prospectiva.	128
▪ Bibliografía.	129



ÍNDICE DE TABLAS, FIGURAS Y DIAGRAMAS

	PÁG.
❖ <u>TABLAS</u>	
Capítulo 1. “Antecedentes”	
• Tabla 1.1. Estadísticas respecto a los diferentes tipos de tumor.	23
• Tabla 1.2. Análisis de las Tecnologías de imagen para el diagnóstico del cáncer	32
• Tabla 1.3. Tipos de Ciclotrón	41
• Tabla 1.4. Tipos de Radionúclidos.	44
Capítulo 2. “Generalidades del método de síntesis y purificación del radiofármaco”	
• Tabla 2.1 Reacciones nucleares empleadas para producir el $[^{18}\text{F}]\text{FES}$.	57
Capítulo 3. “Descripción técnica de la síntesis del radiofármaco $[^{18}\text{F}]\text{FES}$”	
• Tabla 3.1 Ficha química de $[^{18}\text{F}]\text{FES}$	65
• Tabla 3.2 Características del ciclotrón.	67
• Tabla 3.3. Reactivos para preparar la solución de K_2CO_3 / kryptofix – 222	69
• Tabla 3.4. Reactivos utilizados para la síntesis $\text{S}_{\text{N}}2$ del radiotrazador.	73
• Tabla 3.5. Características de la columna de purificación HPLC.	74
• Tabla 3.6. Características del reactivo y material para la formulación del radiotrazador	74
Capítulo 4. “Descripción técnica de los métodos generales de análisis para la purificación del radiofármaco $[^{18}\text{F}]\text{FES}$”	
• Tabla 4.1. Características del equipo utilizado para la prueba de pureza e identidad radioquímica.	77
• Tabla 4.2. Características del calibrador para la prueba de identidad del radionúclido.	81
• Tabla 4.3. Características del equipo utilizado para la prueba de pureza del radionúclido.	81
• Tabla 4.4. Características del equipo utilizado para la prueba de solventes orgánicos residuales.	83
• Tabla 4.5. Características del equipo utilizado en la prueba para kryptofix-222 residual	83
• Tabla 4.6. Características del equipo utilizado en prueba de mancha del kryptofix-222.	86
• Tabla 4.7. Características del equipo utilizado en la prueba para pH.	87



- Tabla 4.8. Características del equipo utilizado para la prueba de pirógenos 87
- Tabla 4.9 Características del equipo utilizado en la prueba de Esterilidad. 89
- Tabla 4.10 Criterios para la liberación del producto. 93

Capítulo 5. “Resultados”

- Tabla 5.1 Resultados del cromatograma (UV – Gamma) FES Estándar. 100
- Tabla 5.2 Resultados del cromatograma (UV – Gamma) del producto final [^{18}F]FES. 102
- Tabla 5.3 Tiempo de retención del FES Estándar. 102
- Tabla 5.4 Tiempo de retención del producto final [^{18}F]FES 102
- Tabla 5.5 Tiempo de retención en prueba de pureza química. 102
- Tabla 5.6 Hoja de liberación del producto final (traducción) 107

Anexo 1. Especificaciones técnicas de los equipos.

- Tabla A₁ .Características generales del Ciclotrón Eclipse HP 111
- Tabla A₂ .Características generales del Módulo de Síntesis Explora GN 112
- Tabla A₃ .Características generales del módulo de purificación HPLC. 114

Anexo 2. Métodos generales de análisis basados en la Farmacopea de México.

- Tabla B₁. Actividades recomendadas para estudios con radiofármacos de positrones. 122

❖ FIGURAS

Capítulo 1. “Antecedentes”

- Fig. 1.1: Tipos de Cáncer más comunes en México. Distribución porcentual de las principales causas de defunción por tumores malignos según sexo (2008). 24
- Fig. 1.2: Evolución tecnológica en la medicina de diagnóstico por imagen. 26
- Fig. 1.3: Esquema de la obtención de imagen plana (proyectiva) como mapa de atenuación de los rayos X 28
- Fig. 1.4. Representación del proceso de TAC 28
- Fig. 1.5. TAC del cerebro humano 28
- Fig. 1.6: Exploración mediante resonancia magnética del cerebro humano 29
- Fig. 1.7. SPECT del cerebro humano 30
- Fig. 1.8. Imagen por PET del cerebro y parte del cuerpo humano 30
- Fig. 1.9. Ernest Lawrence mostrando primer acelerador de partículas (Ciclotrón). 37



- Fig. 1.10. Representación de la detección por coincidencia de los rayos gamma producidos en la reacción de aniquilación de radionúclidos emisores de positrones y su correspondiente reconstrucción para la generación de la imagen PET. **37**
- Fig. 1.11. Primer instrumento para la generación de imágenes clínicas. **38**
- Fig. 1.12. Tomógrafo PET (ECAT EXACT HR⁺, Siemens). **38**
- Fig. 1.13 Ciclo del PET **40**
- Fig. 1.14 Vista panorámica del acelerador de partículas tipo Ciclotrón (RDS 111 de 11MeV) **42**
- Fig. 1.15 Módulo automático de Síntesis Química. **42**
- Fig. 1.16 Ciencias que involucran la producción de un radiofármaco. **43**
- Fig. 1.17 Proceso de aniquilación de un positrón y un electrón con la consiguiente formación de dos fotones opuestos de 511 keV. **45**

Capítulo 2. “Generalidades del método de síntesis y purificación del radiofármaco”

- Fig. 2.1 Proceso General de Síntesis del 16 α -[¹⁸F] Fluoroestradiol ([¹⁸F] FES). **50**
- Fig. 2.2 Descripción de funcionamiento de un ciclotrón. **51**
- Fig. 2.3 Movimiento de una partícula dentro de un ciclotrón. **52**
- Fig. 2.4 Interior de un ciclotrón. **53**
- Fig. 2.5 Detalle Target **53**
- Fig. 2.6 Sistema de Radiofrecuencia **54**
- Fig. 2.7 Bomba para el sistema de vacío **54**
- Fig. 2.8 PC de control **55**
- Fig. 2.9 Refrigeración Ciclotrón. **55**
- Fig. 2.10 Detalle intercambiador agua – agua. **56**
- Fig. 2.11 Bomba de recirculación. **56**
- Fig. 2.12 Esquema general de reacción para la síntesis de radiofármacos PET. **59**
- Fig. 2.13 Esquema de la reacción química [¹⁸F]FES **61**
- Fig. 2.14 Esquema de la Unidad de síntesis automatizada **62**

Capítulo 3. “Descripción técnica de la síntesis del radiofármaco [¹⁸F]FES”

- Fig. 3.1 Pasos de la síntesis química del [¹⁸F]FES. **66**
- Fig. 3.2 Ciclotrón General Electric Medical Systems PET trace 6, 17 MeV protones/8 MeV deuterones. **67**
- Fig. 3.3 Módulo de síntesis que se encuentra dentro de la “celda caliente”. **70**
- Fig. 3.4 Módulo de síntesis química GEMS TracerLab FX N para radiotrazadores marcados con Flúor 18. **71**
- Fig. 3.5 Módulo de síntesis en funcionamiento. **71**



- Fig. 3.6 Módulo de síntesis tipo cassette. 72
- Fig. 3.7 Sistema HPLC Nucleosil 120-7 C18 (250 mm X 4.6 mm). 73

Capítulo 4. “Descripción técnica de los métodos generales de análisis para la purificación del radiofármaco [¹⁸F]FES”

- Fig. 4.1 Gabinete de flujo laminar, Nuair Laminar Flow 89

Capítulo 5. “Resultados”

- Fig. 5.1 Cromatograma HPLC preparativo 98
- Fig. 5.2 Cromatograma (UV – Gamma) FES Estándar 99
- Fig. 5.3 Cromatograma (UV – Gamma) del producto final [¹⁸F]FES. 101
- Fig. 5.4 Prueba pH con tiras colorimétricas. 103
- Fig. 5.5 Prueba de color y turbiedad. 104
- Fig. 5.6 Prueba de pirógeno. 105
- Fig. 5.6 Hoja de liberación del producto final. 106

Anexo 1. Especificaciones técnicas de los equipos.

- Fig. A₁. Ciclotrón Eclipse HP 110
- Fig. A₂. Módulo de síntesis general para reacciones nucleofílicas Explora GN 112
- Fig. A₃. Módulo de purificación HPLC de semi – preparación Explora LC. 114

❖ DIAGRAMAS

Capítulo 1. “Antecedentes”

- Diagrama. 1.1. Evolución de la Tecnología PET 36
- Diagrama. 1.2. Bases técnicas para la aplicación de la Tecnología PET 39
- Diagrama. 1.3. Proceso General de Aniquilación. 44
- Diagrama. 1.4. Aplicaciones del PET 47

Capítulo 2. “Generalidades del método de síntesis y purificación del radiofármaco”

- Diagrama. 2.1. Producción del radionúclido. 49



▪ GLOSARIO DE TÉRMINOS.

Atenuación: Es el procedimiento técnico sencillo que se realiza sobre una imagen determinada en la pantalla de adquisición de datos del propio escáner o en las pantallas que dan acceso a las imágenes.

Átomo radiactivo: Es aquel que irradia partículas alpha, beta o gamma.

Cáncer: Es una enfermedad neoplásica con transformación de células que permite hacer referencia a un tumor maligno. Es un conjunto de enfermedades que implican un exceso de células malignas (las células cancerígenas), lo que produce una invasión del tejido circundante o la metástasis que lleva al desarrollo de nuevos tumores.

Cáncer de mama: Es el crecimiento de células malignas en el tejido mamario.

Centro quiral: Se llama centro quiral o asimétrico a un átomo unido a cuatro sustituyentes diferentes. Una molécula que posee un centro quiral tiene una imagen espectacular no superponible con ella, denominada enantiómero.

Ciclotrón: Es un acelerador de partículas que se basa en que el periodo de rotación de una partícula cargada en el interior de un campo magnético uniforme es independiente del radio y de la velocidad.

Colimación: Es la alineación correcta y precisa de los lentes y espejos que conforman la estructura óptica

Colisión: Es cuando dos o más cuerpos se aproximan entre sí, entre ellos actúan fuerzas internas que hacen que su momento lineal y su energía varíen, produciéndose un intercambio entre ellos de ambas magnitudes

Concentración Radiactiva: La concentración radiactiva de una solución se refiere a la radiactividad por unidad de volumen de la solución (Bq/mL). Como en todas las indicaciones que impliquen radiactividad, es preciso hacer referencia a la fecha de calibración.

Curio: Es la unidad de radiactividad, nombrada así en homenaje a los físicos y químicos Pierre y Marie Curie. Representa la cantidad de material en la que se desintegran (3.7×10^{10} átomos por segundo).



Desintegración radiactiva: Es cuando los núcleos están formados por protones y neutrones que se mantienen unidos por una fuerza fuerte. Algunos núcleos tienen una combinación de protones y neutrones que no conducen a una configuración estable, a estos núcleos se les denominan radiactivos. Los núcleos inestables tienden a aproximarse a la configuración estable emitiendo ciertas partículas.

Destilación azeotrópica: Es una de las técnicas usadas para romper un azeótropo en la destilación. Una de las destilaciones más comunes con un azeótropo es la de la mezcla etanol – agua. Usando técnicas normales de destilación, el etanol sólo puede ser purificado aproximadamente el 95%.

Deuterones: Designa el núcleo del átomo de deuterio, un isótopo estable del elemento hidrógeno. El símbolo del deuterón es ${}^2\text{H}^+$, o también es D^+ o d . Un deuterón se compone de un neutrón y un protón. El deuterio se utiliza frecuentemente en los procesos de fusión nuclear, especialmente en conjunto con el tritio, debido al alto rendimiento de la reacción del D.

Elución: En cromatografía se trata de la separación por medio de un lavado progresivo con un líquido apropiado, de sustancias absorbidas por un cuerpo. El proceso de elución se puede detener mientras todos los componentes de la muestra están aún en el lecho cromatográfico, o continuar hasta que lo hayan abandonado.

Eluido: También llamado eluato. En cromatografía en una columna es la sustancia que se separa o sale de la columna después de cada extracción. Este método es de separación y además es cualitativo y cuantitativo.

Eluyente: Es un disolvente que se usa para transportar los componentes de una mezcla a través de una fase estacionaria.

Esterilización: Es la eliminación de toda forma de vida de un medio o material, lo que se lleva a cabo generalmente por medios físicos, por ejemplo, filtración, calor, productos químicos u otras vías.

Etiopatogenia: Es el origen o la causa del desarrollo de una enfermedad, así como sus causas y síntomas.

Fase estacionaria: Es una técnica cromatográfica en la cual se arrastra la muestra, esta suele ser un sólido o un líquido fijado en un sólido. Es la sustancia que está fija en una posición en el procedimiento de la cromatografía.



Fase móvil: Es la fase que se mueve en una dirección definida. Puede ser un líquido o un gas. Esta fase consiste en la muestra que está siendo separada o analizada y el disolvente que se mueven por el interior de la columna. En el caso de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la fase móvil es un disolvente no polar y la muestra es separada.

Haz: Es la región del espacio que ocupa una corriente unidireccional de radiación electromagnética o grupo de ondas emitidas.

Hemodinámica: Parte de la cardiología que se encarga del estudio anatómico y funcional del corazón, mediante la introducción de catéteres finos en las arterias de la ingle o del brazo.

Hidrólisis: Es una reacción química entre una molécula de agua y otra molécula, en la cual la molécula de agua se divide y sus pasan a formar parte de otra especie química. Esta reacción es importante por el gran número de contextos en los que el agua actúa como disolvente.

Imagenología Molecular: Se encarga de los estudios diagnosticados por imagen como ultrasonografía, tomografía computada y resonancia magnética. Está basada en la Medicina Nuclear.

Irradiación: Es quitarle a un cuerpo rayos de luz y calor.

Isotónico: Es aquél en el cual la concentración de soluto dentro de una solución es la misma fuera y dentro de una célula.

Isótopo: Son los átomos de un mismo elemento, cuyos núcleos tienen una cantidad diferente de neutrones y por lo tanto difieren en masa. Se conoce como isótopo a las variedades de átomos que tienen el mismo número atómico y que, por lo tanto, constituyen el mismo elemento aunque tengan un diferente número másico. Los átomos que son isótopos entre sí tienen el mismo número de protones en el núcleo y ocupan el mismo lugar en la tabla periódica.

Medio Anhidrido: De una sustancia química, es la ausencia de agua en las sales cristalizadas.

Osmosis: Es un fenómeno físico relacionado con el comportamiento de un sólido como soluto de una solución ante una membrana semipermeable para el solvente pero no para los solutos

PET/CT: Es una tecnología de diagnóstico por imagen que fusiona la tomografía por emisión de positrones, que produce una imagen de la función molecular a nivel celular, con la tomografía computarizada que adquiere una imagen anatómica de todo el cuerpo.



Positrón: También llamado antielectrón, es la antipartícula de un electrón. Es una partícula que tiene igual masa eléctrica que el electrón e igual carga eléctrica pero positiva.

Química Fina: Forma parte del sector industrial, y este comprende numerosas industrias especializadas en medicamentos, fertilizantes, plaguicidas, colorantes, etc.

Radiación: Es la propagación de energía en forma de ondas electromagnéticas o partículas subatómicas a través del vacío o de un medio material.

Radiactividad: Es un fenómeno físico por el cual algunos cuerpos o elementos químicos llamados radiactivos, emiten radiaciones que tienen la propiedad de impresionar placas fotográficas, ionizar gases, producir fluorescencia, atravesar cuerpos opacos a la luz ordinaria, entre otros.

Radiactividad Específica: De una preparación de material radiactivo es la radiactividad por unidad de masa del elemento o del compuesto de que se trate (Bq/mg o Bq/mmol).

Radiofármaco: Es una molécula o una estructura celular que presenta en su constitución un isótopo radiactivo y es usado para diagnóstico y/o tratamiento de enfermedades. En medicina nuclear, aproximadamente el 95% de los radiofármacos son usados para fines de diagnóstico y estos son administrados en pequeñas cantidades y deben ser estériles, libres de pirógenos y requieren ser sometidos a rigurosos controles de calidad que aseguren el uso de los mismos en seres humanos, en procedimientos clínicos en medicina nuclear apoyado a las diversas especialidades médicas.

Radionúclido: Es un elemento químico con configuración inestable que experimentan una desintegración radiactiva que se manifiesta en la emisión de radiación en forma de partículas alfa, beta y gama.

Resina: Es una secreción orgánica que producen muchas plantas, particularmente los árboles del tipo conífera. Es muy valorada por sus propiedades químicas y sus usos asociados, por ejemplo la producción de barnices, adhesivos y aditivos alimenticios.

Secado Azeotrópico: Es una de las técnicas usadas para romper un azeótropo en la destilación. Una de las destilaciones más comunes con un azeótropo es la mezcla etanol – agua.

Síntesis Química: Es el proceso por el cual se obtienen compuestos químicos a partir de sustancias más simples. El objetivo principal de la síntesis química, además de producir



nuevas sustancias químicas, es el desarrollo de métodos más económicos y eficientes para sintetizar sustancias naturales ya conocida.

Solvatación: Es el proceso de asociación de moléculas de un disolvente con moléculas o iones de un soluto. Al disolverse los iones en un solvente, se dispersan y son rodeados por moléculas de solvente. A mayor tamaño del ión, más moléculas de solvente son capaces de rodearlo, y más solvatado se encuentra el ión.

Sustitución Nucleofílica: Es un tipo de reacción de sustitución en la que un nucleófilo rico en electrones reemplaza en una posición electrófila pobre en electrones, de una molécula a un átomo o grupo, denominados grupo saliente. Es un tipo de reacción fundamental en química orgánica donde la reacción se produce sobre un carbono electrófilo. Aunque reacciones de sustitución nucleofílica también pueden tener lugar sobre compuestos covalentes.

Unidades de radiactividad: La actividad de una cantidad determinada de material radiactivo se expresa por el número de transformaciones nucleares que se producen por unidad de tiempo. La unidad del SI de actividad es el becquerel (Bq), nombre especial para una desintegración por segundos (s^{-1}). La expresión de la actividad utilizando el becquerel indica el número de desintegraciones por segundo. El curie (Ci) es igual a 3.7×10^{10} Bq

Vía Endovenosa: Es una de las cuatro vías parenterales que existen para la administración de medicamentos lo cual, en atención primaria, se suele llevar a cabo de manera directa o por goteo intravenoso.



▪ INTRODUCCIÓN.

A nivel mundial, el cáncer es la principal causa de mortalidad con 7.9 millones de defunciones ocurridas al año, es decir el 13% de las defunciones mundiales. En el 2008 se reveló que el cáncer es una de las causas principales por la cual los mexicanos pierden la vida. En el 2007, el cáncer representó la 3ª causa de muerte entre las mujeres con 35,303 defunciones (15.4%) y en los hombres representa la 4ª causa de muerte con 33,509 defunciones (11.8%). En el 2008, el porcentaje por tumores malignos pasó de 12.4% a 13.4%. Los tres principales tipos de cáncer que causan la muerte en las mujeres de México fueron: cáncer de mama 8.4%, leucemia 5.6%, cérvico uterino 4.8%, Consecuentemente, en los hombres de México fueron: leucemia 15%, cáncer de próstata 6.0%, tráquea, bronquios y pulmón 4.1%.

Actualmente la tecnología de imagen para la detección y tratamiento oportuno del tumor de mama, es usando el PET. Con esta tecnología, aproximadamente el 70% de los pacientes evaluados tienen expresión positiva de receptor de estrógeno o de progesterona y, al hacer otro tipo de estudios, aproximadamente el 50% – 60% de los pacientes evaluados, responden al tratamiento hormonal. Es por eso que el radiotrazador [^{18}F]FES usando el PET, promete un mejor diagnóstico al ser comparado con otro tipo de tecnologías utilizadas para detectar el cáncer, tales como el TAC.

El mercado de las Tecnologías de la Medicina Nuclear se enfoca al desarrollo de radiotrazadores para la detección de tumores y los diferentes tipos de canceres. Este proyecto de tesis si es llevado a cabo oportunamente, podría reducir los costos de salud, económicos y de calidad de vida para el país. Así como los costos de tratamiento alternativo de quimioterapia, no sin antes lograr la síntesis química del radiotrazador [^{18}F]FES.



OBJETIVO GENERAL.

- Obtener las bases técnicas y generales para desarrollar la síntesis del radiotrazador más utilizado en la detección del cáncer de mama.

OBJETIVOS PARTICULARES.

- Caracterizar radiofármacos para la detección del cáncer de mama en seres humanos.
- Sintetizar el radiotrazador [^{18}F]FES.
- Realizar investigación química de los radiofármacos a partir de los estudios de imagen de PET en cáncer.



▪ **RESUMEN.**

Hoy por hoy el mercado de las plataformas tecnológicas de medicina molecular e imagenología enfocado al desarrollo de radiotrazadores para la detección de tumores en los principales tipos de cánceres, está en su fase inicial y creciente en México. Es posible que exista un número limitado de unidades de producción de estos radiotrazadores en países desarrollados y subdesarrollados. Al desarrollar este proyecto a grande escala y oportunamente sería posible iniciar el mercado en México, con tecnología propia y atendiendo a una necesidad incuestionable en el mercado.

Por otro lado, se puede observar que el cáncer es un grave problema ya que, afecta sectores como el de salud y económico, así como, la calidad de vida para el país, que afecta enormemente su desarrollo. Es por eso que la síntesis del radiotrazador [^{18}F]FES podría suplantar y reducir los costos del tratamiento alternativo de quimioterapia, y en los casos que se aplicable atender de mejor manera y más oportuna los cánceres que aquejan a la población mexicana.

Es importante mencionar que desarrollar radiotrazadores, aún no explorados en México, para cánceres específicos, provocará un enorme beneficio para el país y, se obtendrán fármacos de alto impacto.



Capítulo I:

“Antecedentes”



1. Capítulo I. “Antecedentes”.

La palabra cáncer viene del griego y significa “cangrejo”. Cáncer es un término que se usa para enfermedades en las que las células anormales se dividen sin control y pueden invadir otros tejidos. Se dice que las formas corrientes de cáncer avanzado adoptan una forma mezclada y con ramificaciones muy similar a la de un cangrejo marino

Actualmente se le llama cáncer de mama a la proliferación acelerada desordenada y no controlada de células pertenecientes a distintos tejidos de una glándula mamaria.

Mundialmente el cáncer es una de las principales causas de mortalidad. Este flagelo es resultado de la interacción de factores genéticos y externos (físicos, químicos y biológicos) que produce la degeneración de las células, con lo que se originan lesiones precancerosas y finalmente tumores malignos. Dichos tumores suelen estar localizados en una zona en específico, pero fortuitamente pueden diseminarse a otros órganos (metástasis).

De acuerdo al estudio realizado por la OMS en el 2005, es posible prevenir el cáncer en 30% de los casos de cáncer a través de la disminución de factores de riesgo. Por ello, en México se llevan a cabo programas encaminados a prevenir los principales tipos de cáncer, a través de estrategias de prevención y detección oportuna.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que el 8% o el 9% de las mujeres desarrollarán a lo largo de su vida cáncer de mama.

1.1. Antecedentes.

1.1.1. Antecedentes Clínicos.

Desde 1989 el cáncer ha sido un grave problema para la salud de los mexicanos. En el 2007 se indicó que el cáncer es la 3ª causa de muerte en el país.

En la siguiente tabla la Secretaría de Salud (SSA) reporta que del egreso hospitalario por cáncer en 2008, la leucemia tuvo mayor presencia (8.7%), seguida del cáncer de mamá (5.8%), de cuello uterino (3.3%), y ovario (2.1%). Además se puede detectar que el cáncer de mama es una de las patologías asociadas al envejecimiento, al retraso en el inicio de la vida reproductiva y a los estilos de vida, además, representa un problema de salud pública, debido al incremento gradual y sostenido del cáncer, así como al costo de su tratamiento.(INEGI, 2008)



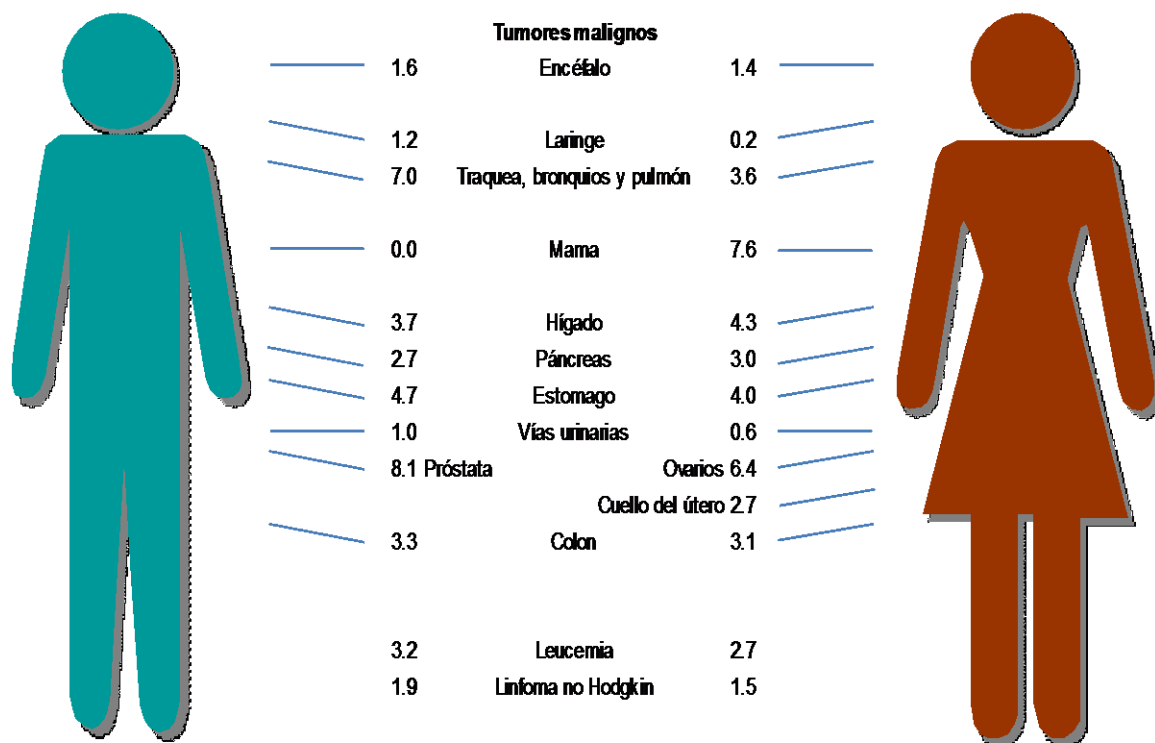
En el 2008, la incidencia de cáncer de mama en México fué de 7.57 casos por cada 100 mil habitantes, afectando principalmente a las mujeres, quienes presentan una incidencia mucho más alta al de las estadísticas establecidas para los hombres.

Tabla.1.1. Estadísticas respecto a los diferentes tipos de tumor.

Distribución porcentual de egresos hospitalarios por tipo de tumor maligno para cada sexo. (2008)			
Tipo de tumor maligno	TOTAL	Hombres	Mujeres
TOTAL	100	100	100
Leucemia	8.7	15.2	5.6
Mama	5.8	0.4	8.3
Cuello del útero	3.3	0	4.8
Ovario	2.1	0	3.1
Tráquea, bronquios y pulmón	2	4.1	1
Próstata	1.9	6	0
Del estómago	1.8	3.1	1.1
Del colon	1.8	3.2	1.2
Hígado	1.2	1.9	0.8
Del rectosigmoides, recto y ano	1.1	2	0.7
Vejiga	1	2.2	0.4
Labio, cavidad bucal y faringe	0.9	1.9	0.5
Páncreas	0.9	1.5	0.7
Cuerpo del útero	0.8	0	1.1
Melanoma y otros tumores de piel	0.5	0.6	0.3
Esófago	0.4	1.1	0.1
Otros	65.8	56.8	70.3

Finalmente en la figura 1.1 se muestra que de acuerdo con las defunciones por tumores malignos en 2008, entre los hombres, el mayor porcentaje de lesiones malignas fue en la próstata, tumores de tráquea, bronquios y pulmón, enfermedad asociada al consumo de tabaco. Y entre las mujeres destaca el cáncer de mama y el cáncer cérvico – uterino.

Porcentaje de defunciones por tumores malignos para cada sexo
2008



Fuente: INEGI. Estadísticas Vitales. Defunciones 2008. Base de datos.

Fig. 1.1: Tipos de Cáncer más comunes en México. Distribución porcentual de las principales causas de defunción por tumores malignos según sexo (2008).

Algunas estadísticas respecto al cáncer en México son:

- Se estima que en el 2030 fallecerán a causa del cáncer 12 millones de personas en el mundo, prácticamente el número de personas que habita en el Distrito Federal.
- 120 mil personas son diagnosticadas con cáncer al año.
- Más de 70 mil mexicanos mueren al año a causa del cáncer.
- 176 mexicanos mueren diariamente a causa del cáncer
- 7 mexicanos mueren cada hora a causa del cáncer.
- Cada 2 horas muere una mujer por causa del cáncer de mama.
- Existe un alto porcentaje de abandono de los tratamientos por falta de recursos económicos.
- El 70% del cáncer es curable cuando se detecta a tiempo y, se brinda el tratamiento adecuado. (INEGI, 2008)



1.1.2. Antecedentes Técnicos.

La medicina nuclear molecular es un área especializada de la radiología que utiliza cantidades muy pequeñas de sustancias radioactivas para examinar la función y estructura de un órgano. Hace exámenes de diagnóstico que producen imágenes de la anatomía y del funcionamiento del organismo; y para ello emplea técnicas seguras y con un alto índice costo/beneficio. (ADAM, 2002)

Las imágenes se obtienen por medio de la detección de la energía emitida por una sustancia radiactiva llamada radiofármaco o radiotrazador que se le da al paciente normalmente por vía oral o intravenosa, sin embargo también se administra por vía inhalatoria o intracavitaria. La generación de las imágenes es una combinación de muchas disciplinas diferentes como la medicina, la química la física, las matemáticas, la tecnología en sistemas computacionales y la medicina. Algunas de las ramas de estas ciencias son: la biología molecular, la bioquímica, la biofísica, la biotecnología, el diseño e instrumentos o la radioterapia tienen tanta importancia como la medicina interna, la oncología, la endocrinología, la neurología, la cardiología, la hematología, la inmunología, la nefrología, etc.

El estudio general de la medicina nuclear molecular, permite descubrir alteraciones mucho antes de que las enfermedades se detecten clínicamente, lo que beneficia hacer tratamientos tempranos más efectivos y pronósticos más favorables. En un punto más específico, la medicina nuclear molecular se usa para analizar la función de ciertos órganos del cuerpo humano. Es posible determinar la presencia o la diseminación del cáncer, función de los riñones, función del corazón, función de la tiroides, exploración de los pulmones, entre otras.

Muchos de estos cambios pueden verse en los procedimientos de diagnóstico en los métodos terapéuticos y en el establecimiento del pronóstico de muchas enfermedades.

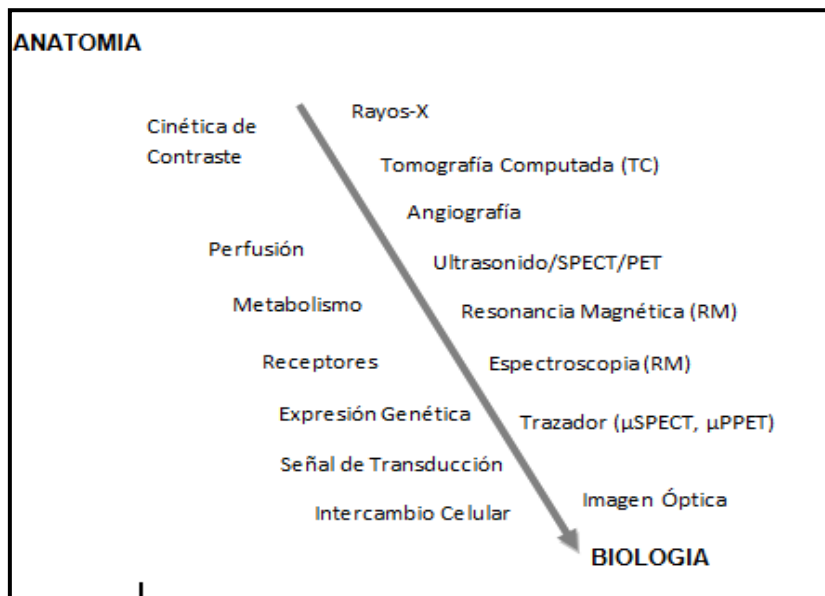


Fig. 1.2: Evolución tecnológica en la medicina de diagnóstico por imagen.

Entre las ventajas y beneficios comprobados del uso y estudio de la medicina nuclear molecular son:

- No es un procedimiento invasivo, es decir, no requiere de cirugía, ni corte de la piel u otros órganos para obtener el resultado deseado.
- No produce molestia durante la aplicación porque la radiación es indolora para el paciente.
- Bajo nivel de radiación.
- La entrega de información es rápida, lo cual puede ser fundamental aplicar este estudio en el área de urgencias en los hospitales de México.

Entre los posibles peligros del uso de la medicina nuclear molecular son:

- Existe la posibilidad de una pequeña dosis de radiación, aunque las dosis de radiofármacos administradas son muy pequeñas.

Es importante mencionar que a nivel mundial, este tipo de medicina se ha estado usando por más de 50 años y, no se conocen efectos negativos de largo plazo.

Los radiotrazadores, radiofármacos y/o radiomoléculas son los materiales usados en medicina nuclear y por la exigencia y calidad que deben otorgar por ser usados en los seres humanos, debe cumplir con ciertas características, entre ellas están:

- Deber ser fisiológicamente inocuos.
- No deben ocasionar efectos tóxicos.



- No deben producir efectos farmacológicos.
- No deben desencadenar reacciones alérgicas, alteraciones hemodinámicas, ni osmóticas

Los radiofármacos se administran casi siempre por vía endovenosa y algunas veces por vía oral. Sin embargo, existen distintos radiofármacos que permiten caracterizar directa o indirectamente distintos procesos patológicos; donde tres de los radiofármacos más novedosos de acuerdo a su potencial clínico y de investigación son:

1. La glucosa marcada con Flúor 18: refleja el metabolismo de la glucosa después de su administración.
2. El octreoscan marcado con Indio – 111: permite localizar receptores de somatostatina (principalmente presentes en la corteza cerebral, el hipotálamo, el páncreas y el tracto gastrointestinal)
3. La meta-iodo-bencil-guanidina marcada con I-131 (I-131-MIBG), que se utiliza para caracterizar mecanismos neuronales de captación como tumores carcinoides (CIENCIAS DE LA SALUD, 2008)

1.2. Tecnologías orientadas al diagnóstico de cáncer.

Los estudios para el diagnóstico del cáncer tienen prioridad pero no exclusivamente de la aplicación de las radiaciones ionizantes al diagnóstico y tratamiento de enfermedades. La Química Nuclear y la Física Atómica han jugado un papel clave durante el siglo XX en el desarrollo de instrumentación; teorías y técnicas aplicadas en este campo. Algunas de ellas son:

- **Rayos X:**

Permite obtener información anatómica que facilite el diagnóstico de padecimientos de los tejidos dañados como el caso del cáncer. La denominación rayos X designa a una radiación electromagnética invisible, capaz de atravesar cuerpos opacos y de imprimir las imágenes, tal y como se muestra en la figura 1.3.

Son ondas electromagnéticas (como la luz visible) generadas por la desaceleración de electrones energéticos que chocan con una superficie, las cuales tienen la propiedad de ser extraordinariamente penetrantes.

En estas imágenes (radiografías) los huesos bloquean el paso de la mayoría de las partículas de rayos X y aparecen en blanco; el metal y los medios de contraste (tintes utilizados para resaltar áreas del cuerpo) también se aprecian de color claro.

Los actuales sistemas digitales permiten la obtención y visualización de la imagen radiográfica directamente en una computadora sin necesidad de imprimirla. La longitud de onda está entre 10 a 0.1 nanómetros, correspondiendo a frecuencias en el rango de 30 a 3000 PHz (de 50 a 5000 veces la frecuencia de la luz visible).

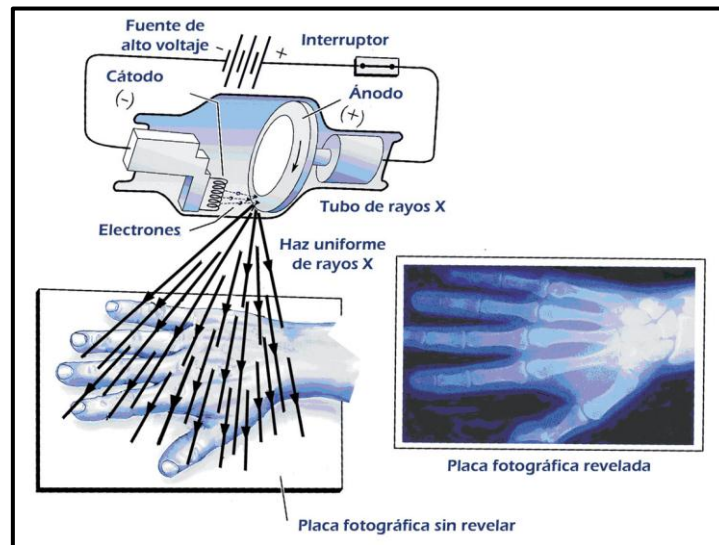


Fig. 1.3: Esquema de la obtención de imagen plana (proyectiva) como mapa de atenuación de los rayos X

▪ **Tomografía Axial Computarizada (TAC):**

Permite obtener imágenes bidimensionales del interior del cuerpo humano mediante el uso de los rayos X, donde estas se obtienen por fracciones milimétricas transversales, con el fin de estudiarlo a detalle desde la cabeza hasta los pies y después ser mostrados por un ordenador.

En la figura 1.4 y 1.5 muestran el proceso para obtener una imagen del cuerpo humano para ser detectado algún tipo de cáncer, en este caso el estudio se efectúa en el cerebro de un humano.

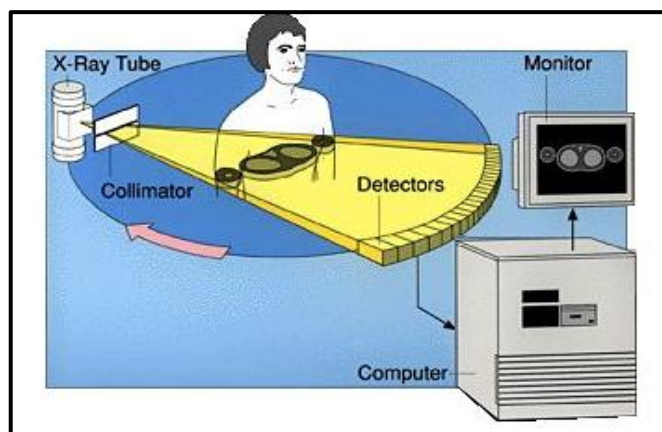


Fig 1.4. Representación del proceso de TAC



Fig. 1.5. TAC del cerebro humano

El uso de TAC provee información anatómica morfológica para el análisis médico, pero no es posible detectar la función celular ni las variaciones de la misma, por lo que no es posible evaluar el comportamiento celular anómalo, ni se puede dar el seguimiento necesario post operatorio o, en su caso, durante y después de un tratamiento a base de radiación o quimioterapia.

- **Resonancia Magnética:**

Este método de estudio en imagen, no utiliza radiación ionizante (Rayos X), para esto se usa un campo electromagnético. Es indoloro para el humano, mediante el cual pueden explorarse diferentes partes del cuerpo humano para detectar el cáncer y obtener imágenes de alta calidad de las mismas, donde esto se puede lograr con un imán que atrae los protones que están contenidos en los átomos de Hidrógeno que conforman los tejidos humanos, lo cuales, al ser estimulados por las ondas de radio de frecuencia salen de su alineamiento normal. Cuando el estímulo se suspende, los protones regresan a su posición original, liberando energía que se transforma en señales de radio para ser captadas por una computadora que las transforma en imágenes que pueden describir la forma y funcionamiento de los órganos.

En la figura 1.6 puede verse el cerebro humano a través de una imagen por resonancia magnética, así como, el aparato que hace posible dicho estudio.

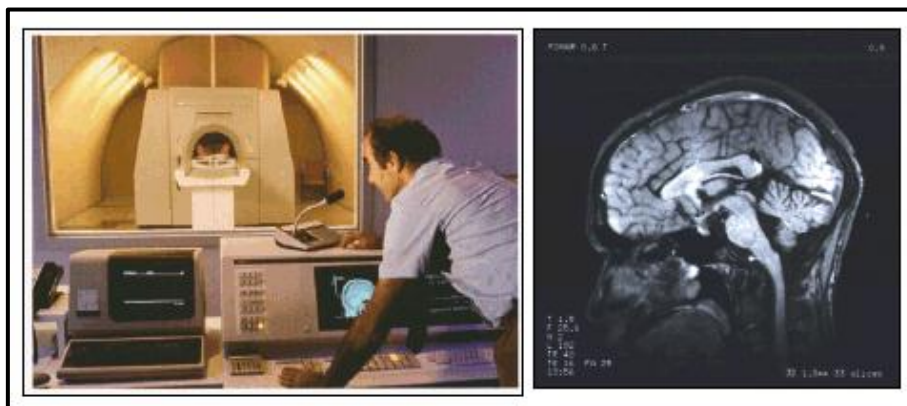


Fig. 1.6: Exploración mediante resonancia magnética del cerebro humano

- **Tomografía Computarizada por emisión de fotones individuales (SPECT):**

La SPECT, es una técnica nuclear que utiliza rayos gamma que, producen isótopos radioactivos, este tipo de imagen puede observarse en la figura 1.7. Las imágenes que se obtienen son bidimensionales pero pueden combinarse para formar imágenes tridimensionales, donde esta imagen se puede manipular informáticamente para obtener secciones dimensionales del cuerpo en cualquier orientación. Es de vital importancia en el diagnóstico de lesiones tumorales (ADAM, 2002).

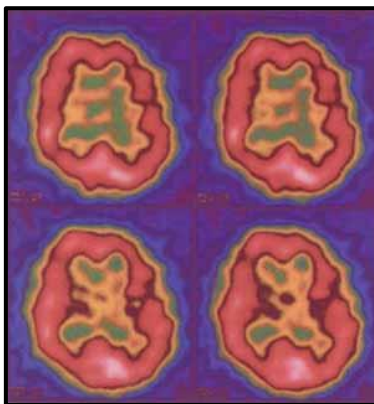


Fig. 1.7. SPECT del cerebro humano

▪ **Tomografía por Emisión de Positrones (PET):**

Brinda a los médicos una mejor herramienta de diagnóstico para detectar en etapas tempranas los padecimientos y así determinar el grado de avance y el tratamiento de la enfermedad.

Permite estudiar, visualizar y cuantificar múltiples procesos bioquímicos y fisiológicos del cuerpo humano. Es una técnica diagnóstica de medicina nuclear no invasiva, cuyo objetivo es medir la actividad metabólica en el cuerpo humano. Se inyecta por vía intravenosa un radiofármaco y posteriormente se analiza su distribución tridimensional en el cuerpo humano. Este radiofármaco inyectado hace que el paciente emita fotones que podrán medirse con un tomógrafo ya que, el objetivo de esta técnica es la localización de tumores detectando un metabolismo patológico de la glucosa.

En la figura 1.8 puede observarse la imagen del cerebro y parte del tórax del cuerpo humano con ayuda de la tecnología PET.

De igual forma, con la técnica PET, permite examinar la densidad de receptores de una zona específica, la cinética de la unión receptor ligando o enzima – sustrato, la afinidad de un compuesto por un receptor fijo o, el efecto de un fármaco en cualquiera de los procesos fisiológicos anticipadamente descritos. (MARGARITA, NUÑEZ; GOPAL, 2010).

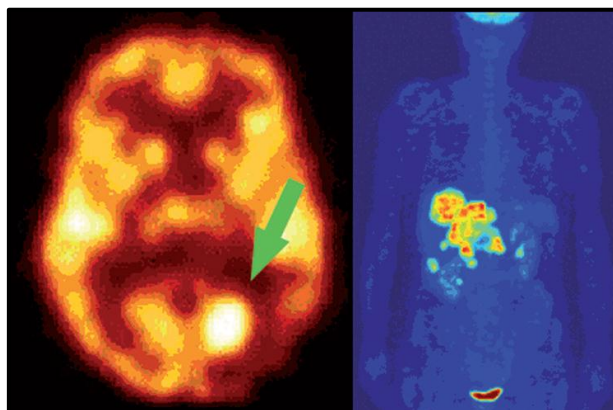


Fig.1.8. Imagen por PET del cerebro y parte del cuerpo humano.



1.2.1. Análisis de las tecnologías de diagnóstico de cáncer.

Es importante tener una idea clara de las tecnologías usadas para el diagnóstico de cáncer en México ya que estas determinan el tipo de imagen y el tratamiento oportuno para ello.

Sin embargo para una mejor observación de cada tecnología para el diagnóstico de cáncer, se ha realizado un estudio comparativo, esto es:



Tabla.1.2. Análisis de las Tecnologías de imagen para el diagnóstico del cáncer

TECNOLOGÍA	PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO	USOS	VENTAJAS	DESVENTAJAS	COSTO
Rayos X	Los Rayos X son emitidos por una máquina como partículas individuales, llamadas fotones, las cuales atraviesan el cuerpo, esta radiación electromagnética forma una imagen latente en la película radiográfica la cual debe ser procesada para hacer visible la imagen.	Traumatología Ortopedia, Neumología, Urgencias de Abdomen. Gastroenterología, otorrinolaringología.	Es un procedimiento barato y seguro	Se expone al paciente a radiación ionizante, contra indicado en el embarazo. Apenas proporciona datos anatómicos con respecto a la localización y extensión de las lesiones, sin aportar información alguna desde el punto de vista hemodinámico. Su valor es limitado incluso para la valoración del grado de afectación ósea y la presencia de calcificaciones	De: \$1, 400 a \$2, 800 (Tórax)
Tomografía Axial Computarizada	La tomografía computarizada (TAC) es un procedimiento de diagnóstico que utiliza un equipo de rayos X especial para crear imágenes transversales del cuerpo. Las imágenes de la TAC se producen usando la tecnología de rayos X y computadoras potentes.	Tórax, Abdomen, Sistema Cardiovascular, Sistema Musculo esquelético. Todas las especialidades médicas, exceptuando dermatología.	Proporciona imágenes de alta fidelidad a bajo costo, La radiación es mínima, permite identificar con precisión los tejidos involucrados en el estudio	Entre las desventajas están que se trata de una técnica basada en la utilización de radiaciones ionizantes, con la necesidad casi siempre de usar medios de contraste que no resultan inocuos debido a su nefrotoxicidad y posibles reacciones adversas, que ocasionalmente pueden ser graves. Además, en el caso de los pacientes pediátricos se hace necesario el uso de sedación, ya que la calidad de los estudios se ve marcadamente deteriorada por el movimiento.	De \$2,400 a \$4,800 (Torax)
Resonancia Magnética	Se somete al paciente a un campo electromagnético con un imán de 1.5 T, hasta 3 T para atraer los protones de los átomos de Hidrogeno que conforman los tejidos humanos los cuales al ser estimulados por las ondas de radiofrecuencia salen de su alineamiento normal. Cuando el estímulo se suspende, los	Valoración de múltiples padecimientos y alteraciones corporales. En la evaluación Integral de tumores de cualquier tipo. Alteraciones en arterias y venas. Lesiones Oseas o de músculos, ligamentos, tendones, articulaciones	No utiliza Rayos X Permite hacer reconstrucciones en tercera dimensión Útil en la planeación estratégica de una cirugía	La limitación más importante de la RM es que requiere de una plena colaboración por parte del paciente, siendo necesario utilizar sedación en pacientes claustrofóbicos y en la población pediátrica. La utilización de equipos abiertos puede aminorar este inconveniente, aunque por regla general éstos suelen ser de menor campo, lo cual puede limitar la calidad de la imagen y la rapidez del estudio en	De \$6,000.00 a \$10,200.00



	protones regresan a su posición original, liberando energía que se transforma en señales de radio las cuales a su vez se transforman en imágenes que describen la forma y funcionamiento de los órganos.	de todo tipo y región. Todas las especialidades médicas exceptuando dermatología y hematología.		aquellos casos en los que deban realizarse múltiples secuencias de adquisición. Otra desventaja es el costo de los estudios de resonancia así como la disponibilidad de equipos adecuados, aunque con el paso del tiempo esta limitación se ha ido aminorando.	
SPECT	La SPECT o Tomografía Computarizada por Emisión de Fotonos Individuales es una técnica médica de tomografía que utiliza rayos gamma. Es muy parecida a una radiografía, pero utiliza una cámara sensible a los rayos gamma y no a los rayos X. Como en una radiografía, cada uno de las imágenes que se obtienen es bidimensional, pero pueden combinarse muchas imágenes tomadas desde distintas posiciones alrededor del paciente para obtener una imagen tridimensional. Esta imagen tridimensional puede después manipularse informáticamente para obtener secciones dimensionales del cuerpo en cualquier orientación.	Sirve para obtener imágenes coronales, sagitales, transversales y oblicuas de cualquier parte. Enfermedades Neurológicas como Demencia, Epilepsia, Alzheimer, Parkinson Enfermedades Cardiovasculares, endocrinológicas y Neurovasculares, Enfermedad de Hodgkin.	Proporciona una fiabilidad diagnóstica sin precedentes, con detección y localización precisa de la enfermedad, así como una corrección de atenuación imágenes nucleares. Permite valorar la perfusión.	<ul style="list-style-type: none"> a) La necesidad de usar un sistema especial de rotación rápida alrededor del paciente. b) La pobre resolución espacial, y la presencia de artefactos debido a radioisótopos presentes en la nasofaringe (cuando se administra el trazador por vía inhalatoria). c) Está contraindicada durante el embarazo. 	De: \$13, 000 a \$ 16, 000
PET/CT	Los equipos PET se optimizan para la detección casi simultánea de un par de fotones de aniquilación en un concepto que se llama colimación electrónica. Existe un tiempo de ventana predeterminado	Es un sistema que proporciona, en imágenes, información funcional, bioquímica y metabólica del cuerpo humano, por medio de la utilización de	Diagnostica la benignidad o malignidad de una neoplasia detectada por otros métodos de imagen; establece	<p>Las diferentes energías de los fotones hacen necesario una adaptación de los valores de CT.</p> <p>Los movimientos respiratorios y la presencia de contraste oral o intravenoso pueden generar artefactos</p>	De \$20,000.00 a \$23,000.00



	<p>electrónicamente, dentro del cual los fotones se consideran en coincidencia. Si bien los fotones emitidos por los puntos de aniquilación A y C están en coincidencia, los tiempos para llegar a los detectores o cristales de centelleo son diferentes y aunque sean coincidentes serán rechazados electrónicamente como no coincidentes. Los fotones coincidentes desde el punto B que llegan a los cristales de centelleo dentro del tiempo de ventana son detectados y aceptados y construyen la imagen. El radioisótopo es incorporado a las moléculas biológicas para obtener imágenes de varios procesos fisiológicos y patológicos en el cuerpo humano.</p>	<p>radiofármacos emisores de positrones. Similarmente a los procedimientos de Medicina Nuclear, un isótopo de vida media corta, como el 18F se incorpora a una sustancia metabolizable por el organismo (como la glucosa, proteína o enzima), la cual es absorbida por un tumor o un grupo celular de interés.</p>	<p>el diagnóstico de extensión previo al planteamiento terapéutico de un cáncer conocido; identifica tumor residual y cambios producidos post cirugía, quimio o radioterapia; localiza recidivas tumorales sospechosas clínicamente o por elevación de marcadores tumorales. Permite hacer nuevos estudios de extensión o reestadificación tras el diagnóstico de una recurrencia; permite valorar tempranamente la respuesta a un esquema terapéutico. PET conduce a una imagenología molecular</p>	<p>en las imágenes. Es un estudio costoso</p>	
--	---	--	--	---	--



1.3. Descripción general de la Tecnología PET.

La Tomografía por Emisión de Positrones (PET) sin duda alguna, se ha convertido en una excelente técnica de diagnóstico por imagen en los campos de la ciencia y medicina; pues es una poderosa herramienta que facilita el monitoreo de los procesos bioquímicos en el cuerpo humano; y esto es gracias a los avances y al estudio dedicado en la instrumentación, así como en la química sintética.

En México la medicina nuclear se empezó a utilizar en el Hospital de “La Raza” del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en 1957.

En el año 2002, la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), adquirió el primer equipo de Tomografía por Emisión de Positrones y el primer Ciclotrón del país, con servicio al público en General.

Las aplicaciones del estudio PET en el diagnóstico e investigación de las enfermedades permiten el estudio de la cuantificación *in vivo* del metabolismo del tejido local, su bioquímica, así como su farmacología, mediante la detección, visualización y cuantificación de la distribución radiactiva del radionúclido emisor de positrones, los cuales son retenidos de forma selectiva como trazador en los sistemas biológicos en estudio.

1.3.1. Evolución de la Tecnología PET.

Para lograr que esta tecnología sea el estudio más avanzado y utilizado en la Medicina Nuclear, tuvo que pasar por un largo proceso, donde éste aleccionó a partir de las primeras imágenes empleando emisores de positrones hasta convertirse en lo herramienta útil que es hoy en día.

Sin embargo, la historia del avance del PET es bastante interesante y suculenta, porque involucra múltiples disciplinas, debido a que los físicos, matemáticos, químicos, ingenieros, médicos, biólogos, entre otros, han jugado un papel muy importante en distintas épocas. (HERVAS, 2009)

En el siguiente diagrama 1.1 puede observarse la evolución del PET a través del tiempo.

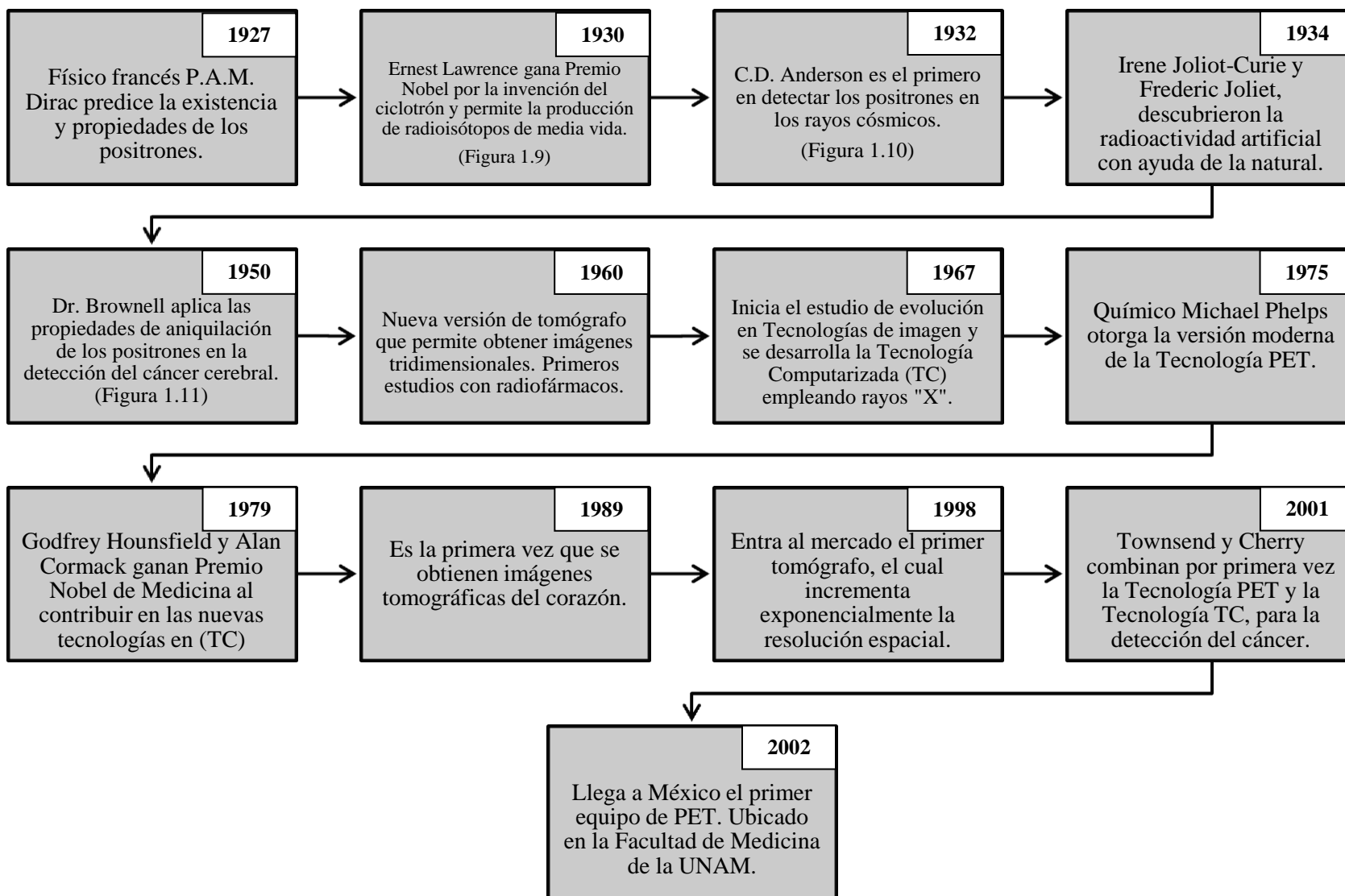


Diagrama.1.1. Evolución de la Tecnología PET

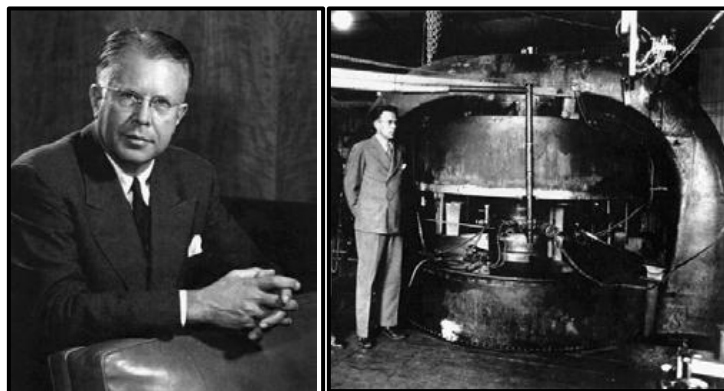


Fig.1.9. Ernest Lawrence mostrando primer acelerador de partículas (Ciclotrón).

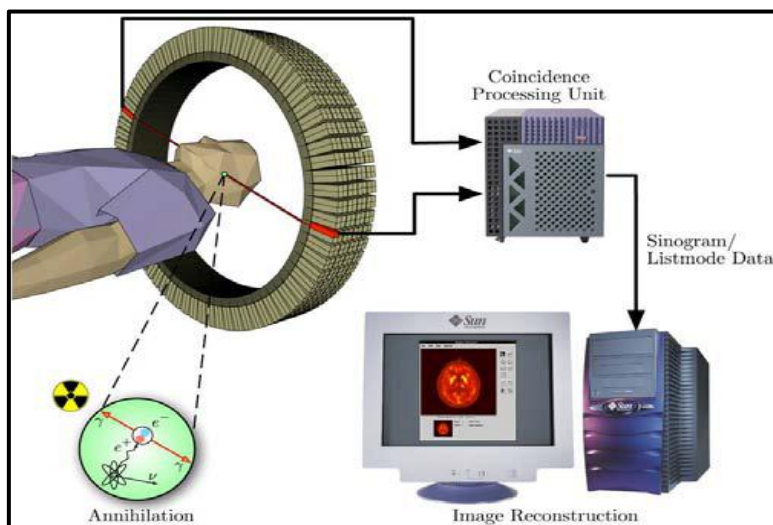


Fig.1.10. Representación de la detección por coincidencia de los rayos gamma producidos en la reacción de aniquilación de radionúclidos emisores de positrones y su correspondiente reconstrucción para la generación de la imagen PET.

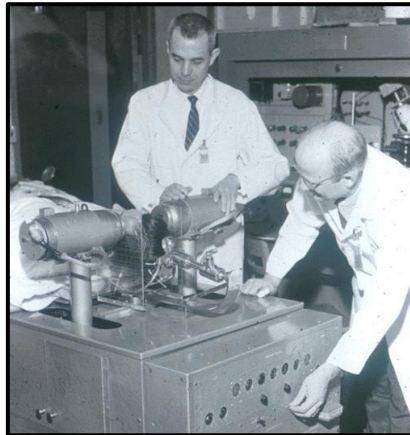


Fig.1.11. Primer instrumento para la generación de imágenes clínicas.

Hoy en día la Tecnología del PET es aceptado enormemente en varios países desarrollados y subdesarrollados, México está en sus inicios, donde esta nueva modalidad de diagnóstico por imagen ha ido puliéndose a través de los años hasta alcanzar límites jamás imaginados en el área de la oncología, sin olvidar que esta es parte de la evolución de la medicina nuclear.

Actualmente el estudio PET (figura 1.12) es el medio de diagnóstico de vanguardia que emplea las propiedades especiales de la aniquilación de los positrones creando así con la ayuda de un software, imágenes tridimensionales de la biodistribución de un radiofármaco en el cuerpo humano.

Para hacer uso de la Tecnología PET, es necesario el uso de radiofármacos, los cuales son administrados al sujeto de diagnóstico en cantidades traza por lo que esta mínima cantidad administrada, no provoca ningún daño secundario al paciente, lo cual hace de esta Tecnología un método de diagnóstico mucho más seguro, eficaz y de bajo costo a largo plazo. Además permite realizar una exploración del cuerpo entero en periodos de tiempo muy cortos (30 minutos) (FOWLER, 1999).



Fig.1.12. Tomógrafo PET (ECAT EXACT HR⁺, Siemens).



En los últimos 35 años, fue posible evolucionar la química sintética y sobretodo, la instrumentación PET se ha fusionado con las Tecnologías de diagnóstico por imagen, donde claramente hace de esta fusión una poderosa herramienta de investigación en el estudio de las transformaciones bioquímicas del cuerpo humano, así como, el daño provocado al cerebro y otros órganos por el consumo de drogas.

A pesar de que el mayor costo de la Tecnología PET es debido al ciclotrón y a los laboratorios de síntesis y control de calidad, ha permitido ser un procedimiento de diagnóstico cada días más extendido, no sólo por la mayor disponibilidad de la técnica, sino también por el favorable costo – beneficio que su aplicación ha venido demostrando en el sistema de salud.

1.3.2. Bases Técnicas para la aplicación de la Tecnología PET.

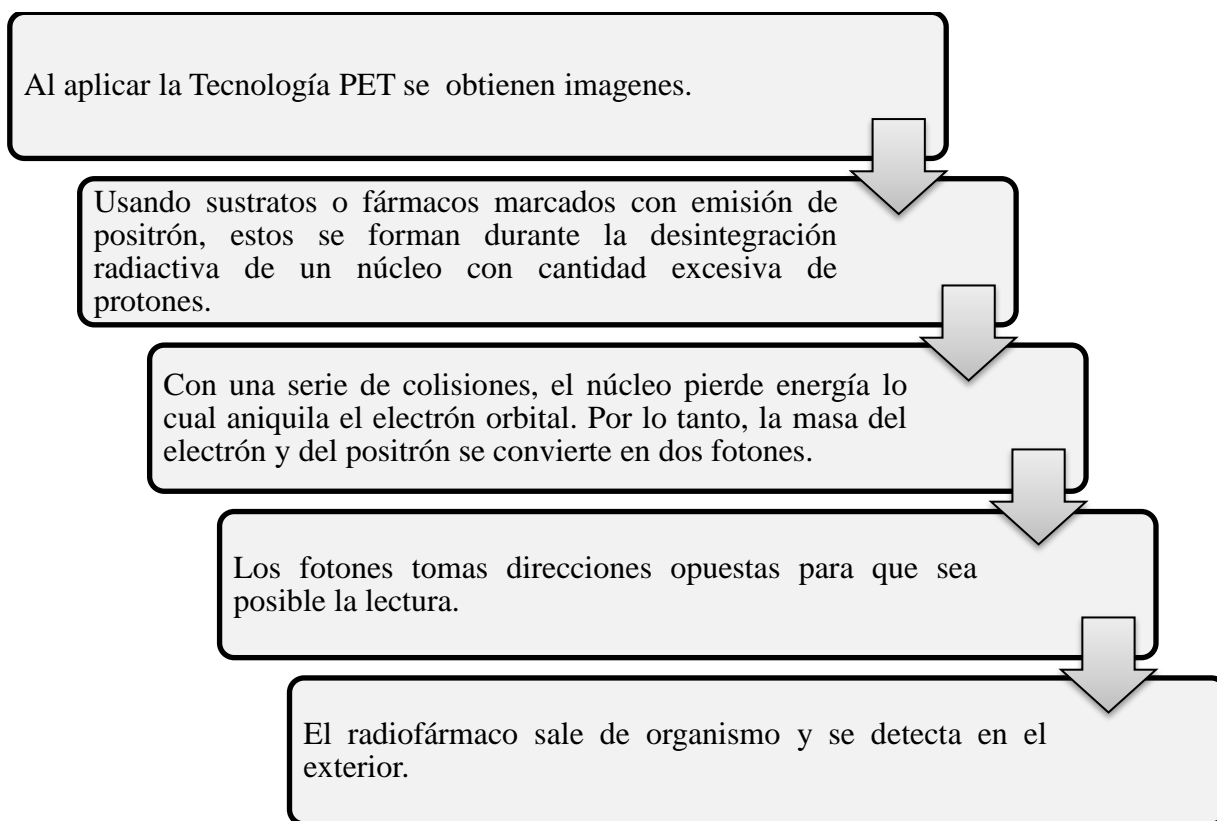


Diagrama.1.2. Bases técnicas para la aplicación de la Tecnología PET.

Básicamente el ciclo del PET (figura 1.13) ocurre de esta manera:

- Producción del radioisótopo en el ciclotrón.
- Síntesis automática del radiofármaco [^{18}F]FES
- Inyección del [^{18}F]FES en el paciente.
- Desintegración del [^{18}F]FES en el equipo PET
- Detección de los dos fotones emitidos simultáneamente y de forma colineal lo cual permite determinar la distribución del [^{18}F]FES e identificar las zonas con mayor metabolismo. El positrón se aniquila en una posición distinta a la cual se generó debido a su rango finito en el tejido, lo que introduce un emborronamiento intrínseco.
- Obtención de la imagen PET.

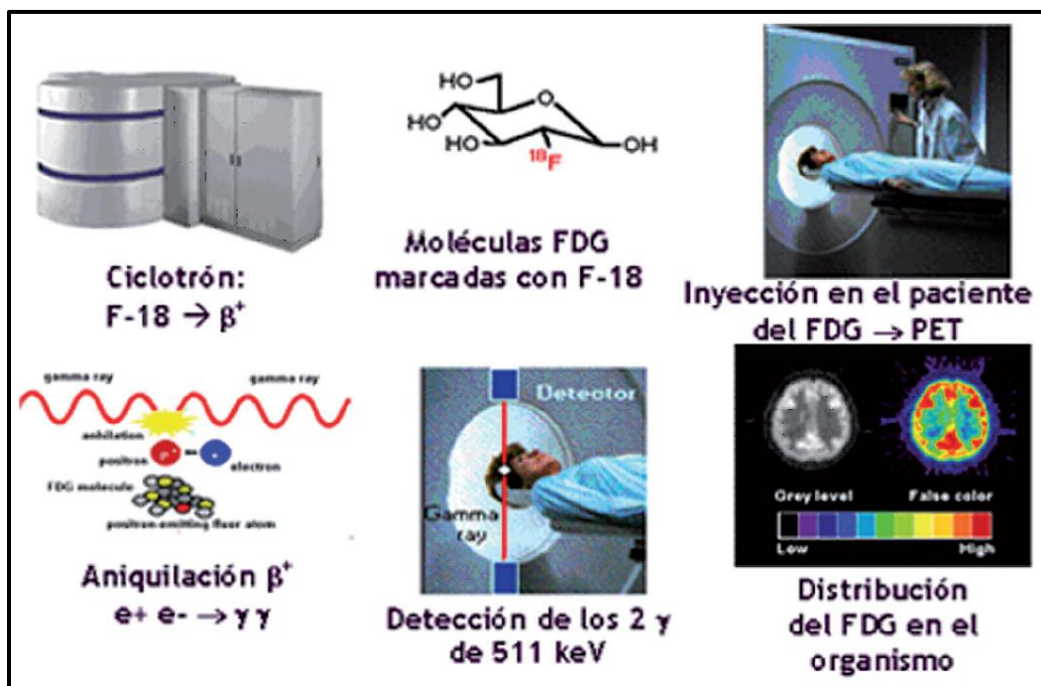


Fig.1.13 Ciclo del PET

En suma la Tecnología PET se basa en la detección de los fotones producidos en la aniquilación de los positrones. A continuación se describen brevemente los elementos involucrados en la creación de imágenes basados en la Tecnología PET:



▪ **Ciclotrón:**

De forma general (figura 1.14), un ciclotrón es una cámara de alto vacío que mediante un campo magnético paralelo al eje del cilindro y un sistema de radiofrecuencia. Son utilizados para acelerar a energías muy altas partículas elementales producidas mediante una fuente de iones situada en el centro de la cavidad. Cuando estas partículas han adquirido suficiente energía su trayectoria es desviada para que choquen con los blancos, en los que tienen lugar reacciones nucleares que llevan a la obtención de los radionúclidos emisores de positrones. Los ciclotrones se clasifican en función del tipo de partícula utilizada, (positiva o negativa) o en función de la energía a la que éstas pueden ser aceleradas.

Algunos tipos de ciclotrones son (LANGEN, 2006)

Tabla.1.3. Tipos de Ciclotrón.

TIPO DE CICLOTRÓN	DEFINICIÓN	FUNCIONAMIENTO
Ciclotrón básico	Acelerador de partículas circular mediante la aplicación combinada de un campo eléctrico oscilante y un magnético. Consigue acelerar los iones haciéndolos girar en orbitas de radio y energías crecientes.	A medida que las partículas ganan energía, el campo los obliga a recorrer un espiral creciente, saliendo al final proyectadas en línea recta del acelerador.
Sincrotrón	Acelerador de partículas circular que a diferencia del ciclotrón básico que produce una cantidad constante de partículas aceleradas, este produce pulsos de partículas.	El principio de su funcionamiento es muy idéntico al del ciclotrón, ya que las partículas se aceleran en una trayectoria circular.
Sincrociclotrones	Acelerador de partículas circular que utiliza un campo eléctrico oscilante.	Es parecido al sincrotrón, pero este permite sincronizar con mayor eficacia la ganancia de masa/energía.
Ciclotrón isócrono	Acelerador de partículas que aprovecha polos cilíndricos corrientes con piezas polares en forma sencilla.	Permite elevar la energía de las partículas obtenidas en los aceleradores.

No obstante, se pueden manejar de forma manual donde lo habitual es fijar únicamente la corriente requerida en el blanco, que va a condicionar la actividad que se obtendrá.



Fig.1.14 Vista panorámica del acelerador de partículas tipo Ciclotrón (RDS 111 de 11MeV)

▪ **Módulo de síntesis radioquímica o Laboratorio radioquímico:**

Los sintetizadores químicos (figura 1.15), son sistemas equipados con diversos componentes de uso habitual en los laboratorios (válvulas, líneas de conducción, reactivos, sistemas de evaporación cromatografía y purificación), los cuales bajo el control de un ordenador pueden realizar de forma automática una serie de procesos de síntesis orgánicas e inorgánicas.

Con esto se ha conseguido simplificar enormemente el marcaje de aquellos radiofármacos de uso clínico que no pueden ser obtenidos directamente desde el blanco del ciclotrón en la forma química definitiva. Una ventaja clara que tiene un módulo de síntesis química es:

- Ofrece un menor riesgo de exposición del personal a la irradiación durante el proceso de síntesis, debido a que en ella no participa activamente ningún operario.
- Ofrece una mayor eficacia y rendimiento
- El control por ordenador de los procesos de síntesis ofrece un medio de reproducir con un alto nivel de fiabilidad los diferentes procedimientos y controlar simultáneamente dos procesos de síntesis distintos.
- La simplicidad del sistema, su fácil configuración, mantenimiento barato y rutinario la flexibilidad del hardware y software de los equipos hacen posible también otras opciones de marcaje y un reducido uso del espacio. (LEE, 2000).



Fig.1.15 Módulo automático de Síntesis Química.

▪ **Radiofármaco:**

Un radiofármaco es toda sustancia que contiene un átomo radiactivo dentro de su estructura y que por su forma farmacéutica, cantidad y calidad de radiación, puede ser administrado en los seres humanos con fines de diagnóstico o terapéuticos. En medicina nuclear, aproximadamente el 95% de los radiofármacos son usados para fines de diagnóstico. Los radiofármacos son administrados en pequeñas cantidades y deben ser estériles, libres de pirógenos y requieren ser sometidos a rigurosos controles de calidad que aseguren el uso de los mismos en seres humanos, en procedimientos clínicos apoyando a las diversas especialidades médicas.

La preparación de radiofármacos involucra tres etapas básicas:

1. Producción del radionúclido
2. Obtención del compuesto no radiactivo (molécula o estructura celular)
3. Reacción del radionúclido con el elemento radioactivo.

Todas las pruebas pasan por un control de calidad (en base a la farmacopea de México) en específico, finalizando el proceso con la administración del radiofármaco al paciente, sin embargo para llevar a cabo la obtención del radiofármaco se involucra diferentes ciencias y/o profesiones, tal y como se muestra en la figura 1.16:

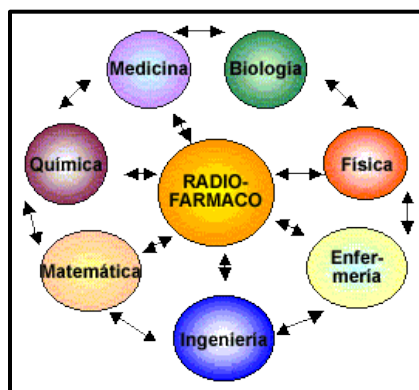


Fig.1.16 Ciencias que involucran la producción de un radiofármaco.

Las características con las que debe contar un radiofármaco son las siguientes:

- La mayoría son de administración única.
- Se usan en cantidades traza.
- Administración intravenosa.
- Tienen un tiempo de media vida relativamente corta.
- Emiten radiactividad, lo que hace que el paciente reciba una dosis de radiación tras su administración



Tabla.1.4. Tipos de Radionúclidos.

Radionúclido	Vida media	Método de producción
Oxígeno-15	122 segundos	$^{14}\text{N}(\text{d},\text{n})^{15}\text{O}$
Nitrógeno-13	9.9 minutos	$^{16}\text{O}(\text{p},\alpha)^{13}\text{N}$
Carbón-11	20.4 minutos	$^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$
Flúor-18	110 minutos	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ (Materia de esta propuesta)
Cobre-62	9.74 minutos	$^{63}\text{Cu}(\text{p},2\text{n})^{62}\text{Zn}$ (generador)
Cobre-64	12.7 horas	$^{64}\text{Ni}(\text{p},\text{n})^{64}\text{Cu}$
Galio-68	68.3 minutos	$^{69}\text{Ga}(\text{p},2\text{n})^{68}\text{Ge}$, ^{68}Ga (generador)
Bromo-76	16.2 horas	$^{76}\text{Se}(\text{p},\text{n})^{76}\text{Br}$
Zirconio-89	3.27 días	$^{89}\text{Y}(\text{p},\text{n})^{89}\text{Zr}$
Yodo-124	4.15 días	$^{124}\text{Te}(\text{p},\text{n})^{124}\text{I}$

▪ **Principios físicos del proceso PET:**

Las grandes ventajas del PET surgen de las propiedades físicas de la emisión de positrones; esto es durante el proceso de aniquilación, esto es:

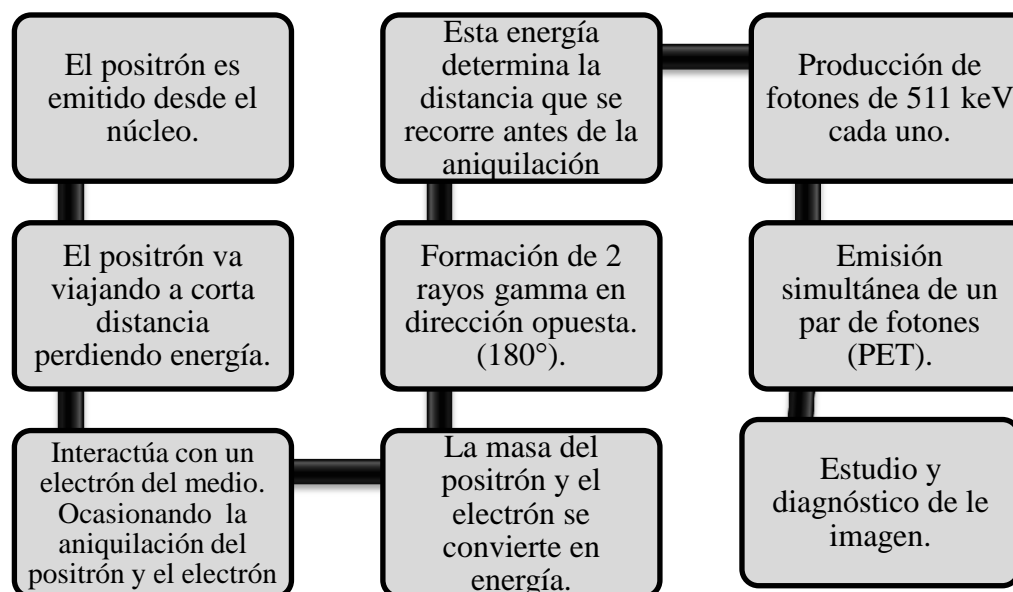


Diagrama.1.3. Proceso General de Aniquilación.

a. Punto de Aniquilación:

Debido a que dos fotones viajan en direcciones opuestas, el punto de aniquilación estará ubicado en una línea recta que une ambos puntos de detección. Esto significa que la información direccional se puede determinar electrónicamente sin la necesidad de una colimación convencional. La colimación se mantiene normalmente para separar datos de

diferentes planos, sin embargo en cada uno de los planos no existe una colimación convencional. En la siguiente figura 1.17 se presenta el proceso de aniquilación.

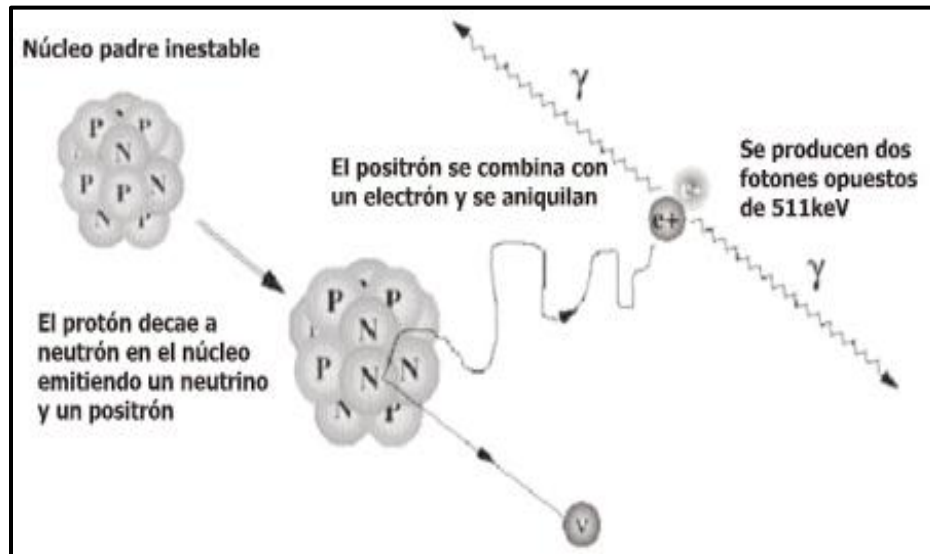


Fig.1.17 Proceso de aniquilación de un positrón y un electrón con la consiguiente formación de dos fotones opuestos de 511 keV.

b. Atenuación:

Es la detección de fotones por coincidencia, la atenuación dependerá solamente del recorrido total a través del paciente, pero será independiente de la ubicación exacta del evento de aniquilación en la profundidad del tejido.

La detección de eventos de positrones necesita la llegada al detector de ambos fotones de 511 keV. La pérdida de cualquiera de los fotones debido a la atenuación significa que la detección de coincidencia no se llevará a cabo. Por lo tanto, el número de eventos detectados dependerá de la posibilidad de que ambos fotones alcancen los detectores.

Ahora bien, la corrección de atenuación en PET se basa en que independientemente de la localización del evento de aniquilación, uno u otro de los fotones atravesarán la totalidad del espesor corporal. Este hecho permite una medida directa de la atenuación para cada trayecto del rayo gamma que atraviesa el cuerpo utilizando una fuente de transmisión externa.

c. Limitaciones físicas de la resolución inherentes al PET:

- *Efecto de alcance:* El proceso de detección identifica el punto de aniquilación el cual está ubicado respecto al punto de origen del positrón. La inexactitud respecto a la verdadera ubicación del evento dependerá de la energía del positrón, que determinará la distancia recorrida antes de la aniquilación.



- *Efecto angular:* Una limitación adicional consiste en que los fotones dobles no viajan exactamente a 180° de diferencia sino que existe una leve variación angular ($> \text{ ó } < 0.5$ grados), lo cual limita adicionalmente la resolución que puede obtenerse a unos 2 – 3 mm. La variación angular es importante para positrones de baja energía como [^{18}F] Fluoruro, mientras que este efecto es insignificante para mayores energías.
- *Resolución intrínseca y global:* En Tecnología SPECT, la resolución intrínseca dependerá del propio detector. En caso de un detector en bloque, está definida por el tamaño de los cristales individuales (FWHM $\sim 1/2$ x tamaño del detector). La resolución global dependerá del efecto combinado de la resolución intrínseca, el efecto de alcance y el efecto angular.
- *Radiación dispersa:* En PET ha sido considerada un efecto menor a diferencia de SPECT, con una geometría convencional, el número de eventos dispersos es relativamente bajo ($< 15\%$). Sin embargo, con sistemas PET tridimensionales que no poseen septos entre los planos la fracción de radiación dispersa puede ser mayor que para SPECT. La mayor parte de los eventos dispersos resultarán de la dispersión de sólo uno de los dos fotones. La línea de coincidencia resultante puede incluso trazarse fuera del cuerpo.
- *Coincidencia aleatoria:* Es un efecto característico en la Tecnología PET. En la práctica, el circuito de coincidencia no es instantáneo, pues acepta dos eventos detectados dentro de una pequeña ventana temporal, del orden de 8 a 12 nanosegundos, para ser considerados originarios de una única aniquilación.
Dos fotones detectados dentro de esta ventana de tiempo serán considerados un único evento aunque se hayan originado en dos aniquilaciones separadas. El número de eventos aleatorios depende de la tasa de conteo debido a que la probabilidad de detectar por casualidad dos fotones no relacionados entre sí (originados de diferentes emisiones de positrones) aproximadamente al mismo tiempo, se incrementa con una tasa de conteo mayor. Favorablemente los eventos aleatorios pueden ser calculados o medidos directamente, aunque estos actúen como una fuente adicional de ruido.
- *Tiempo de Vuelo:* Para ser completa cualquier punto de discusión sobre física de PET debe incluir el tiempo de vuelo. Los principios descriptos hoy en día, asumen que los fotones de aniquilación son detectados “simultáneamente”. En realidad ambos fotones viajan a la velocidad de la luz, pero llegarán en tiempos levemente distintos dependiendo del punto de aniquilación. La nueva tecnología puede detectar esta diferencia de tiempo en un rango de 500 picosegundos, lo cual sólo es suficiente para ubicar directamente el evento de aniquilación en una región de 8 cm.

1.3.3. Aplicaciones de la Tecnología PET.

Algunas aplicaciones de la Tecnología PET y áreas de investigación son por ejemplo:

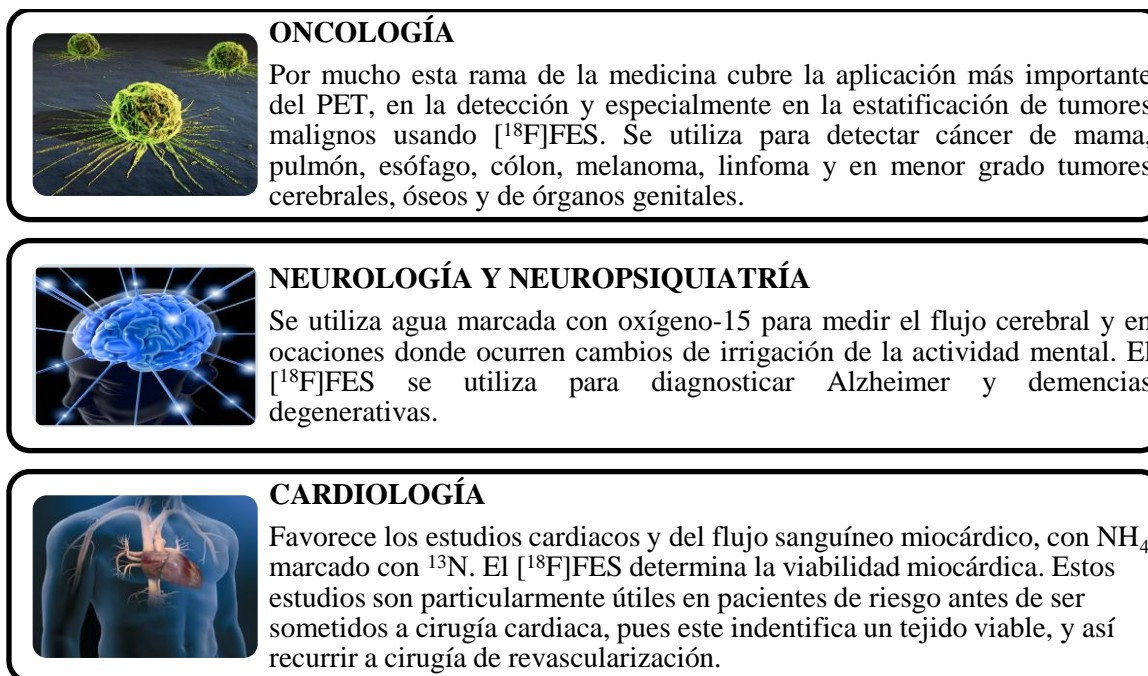


Diagrama.1.4. Aplicaciones del PET.

1.3.4. La Tecnología PET en el futuro.

Hoy en día, todos los estudios realizados apuntan que la imagen híbrida obtenida por la Tecnología PET puede convertirse en un futuro muy cercano en la exploración estándar para la estadificación y seguimiento del cáncer de mama y/o cualquier otro tipo de cáncer. Sin embargo, dentro de poco tiempo las evaluaciones con PET/CT deberán estar orientadas a responder preguntas clínicas específicas, como comparar resultados obtenidos de la Resonancia Magnética Nuclear, a valorar el costo – beneficio y a determinar el manejo del paciente.

Además, la Tomografía PET/CT disminuye las dificultades que se obtienen al captar el radiotrazador en diferentes tipos de enfermedades y tratamientos que dificultan el diagnóstico, ya que encargará de mejorar la localización anatómica de los hallazgos del PET y así reducir las interpretaciones erróneas donde sin duda alguna beneficiará por completo la mejoría del paciente. (HERVAS, 2008).



Capítulo II:

“Generalidades del método de síntesis y purificación del radiofármaco”



2. Capítulo II. “Generalidades del método de síntesis y purificación del radiofármaco”.

2.1. Descripción general del método de síntesis.

El radiofármaco se origina a partir de dos componentes, esto es:

- Fracción radiactiva: Se produce en el ciclotrón, donde después de ser elaborada se traslada hasta el laboratorio.
- Compuesto reactivo (precursor): A este componente se le une la parte radiactiva para construir el radiofármaco final

Para conocer la producción del radionúclido se presenta el siguiente diagrama 2.1:

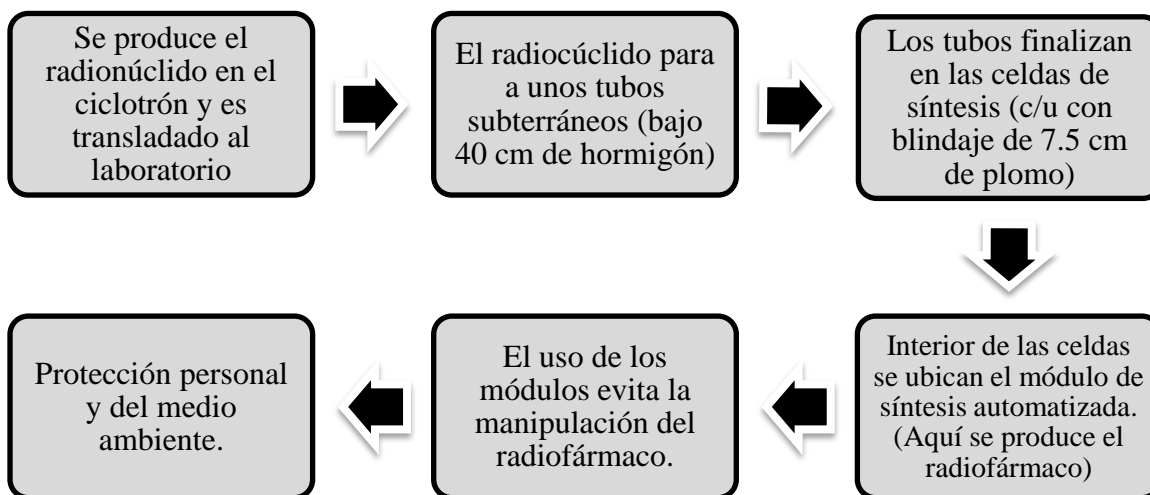


Diagrama.2.1. Producción del radionúclido.

Es importante enfatizar que actualmente hay equipos que permiten la automatización, sin embargo, hay que considerar que se puede llegar a automatizar todo el proceso que va desde la producción del radionúclido y la síntesis del radiofármaco hasta la administración al paciente. Para esto, existen tres posibilidades diferentes:

- a. Utilizar módulos de síntesis automáticos tipo cassette (TETSUYA, 2006).
- b. Robots reprogramables (BRODACK, 1986).
- c. Sistemas semi – automatizados (LIM J. L, 1996)



Para obtener el medicamento final es necesario sintetizarlo con un producto reactivo, pues según el tipo de radiofármaco se utilizará un reactivo u otro. Cuando este producto ya se ha introducido en el módulo de síntesis, comienzan a producirse las reacciones químicas entre el material radiactivo y el reactivo (precursor), necesarias para obtener el radiofármaco. Finalizando la elaboración, el producto se purifica y se extrae del módulo de síntesis en un vial monodosis, calculado para el uso individual de un paciente determinado.

2.1.1. Proceso general de la síntesis química de $[^{18}\text{F}]\text{FES}$.

A. Separación del $[^{18}\text{F}]$, recuperación del H_2^{18}O y elución del $[^{18}\text{F}]$.

El $[^{18}\text{F}]$ se separa del H_2^{18}O , mediante una resina de intercambio iónico. Cuando el material blanco (^{18}F en H_2^{18}O), pasa a través de la resina, el $[^{18}\text{F}]$ queda retenido en la misma.

Una vez recuperada el H_2^{18}O , se eluye la resina con una solución que libere el $[^{18}\text{F}]$ para su utilización en la reacción de sustitución y se le realiza en ocasiones una destilación azeotrópica. Esto es:

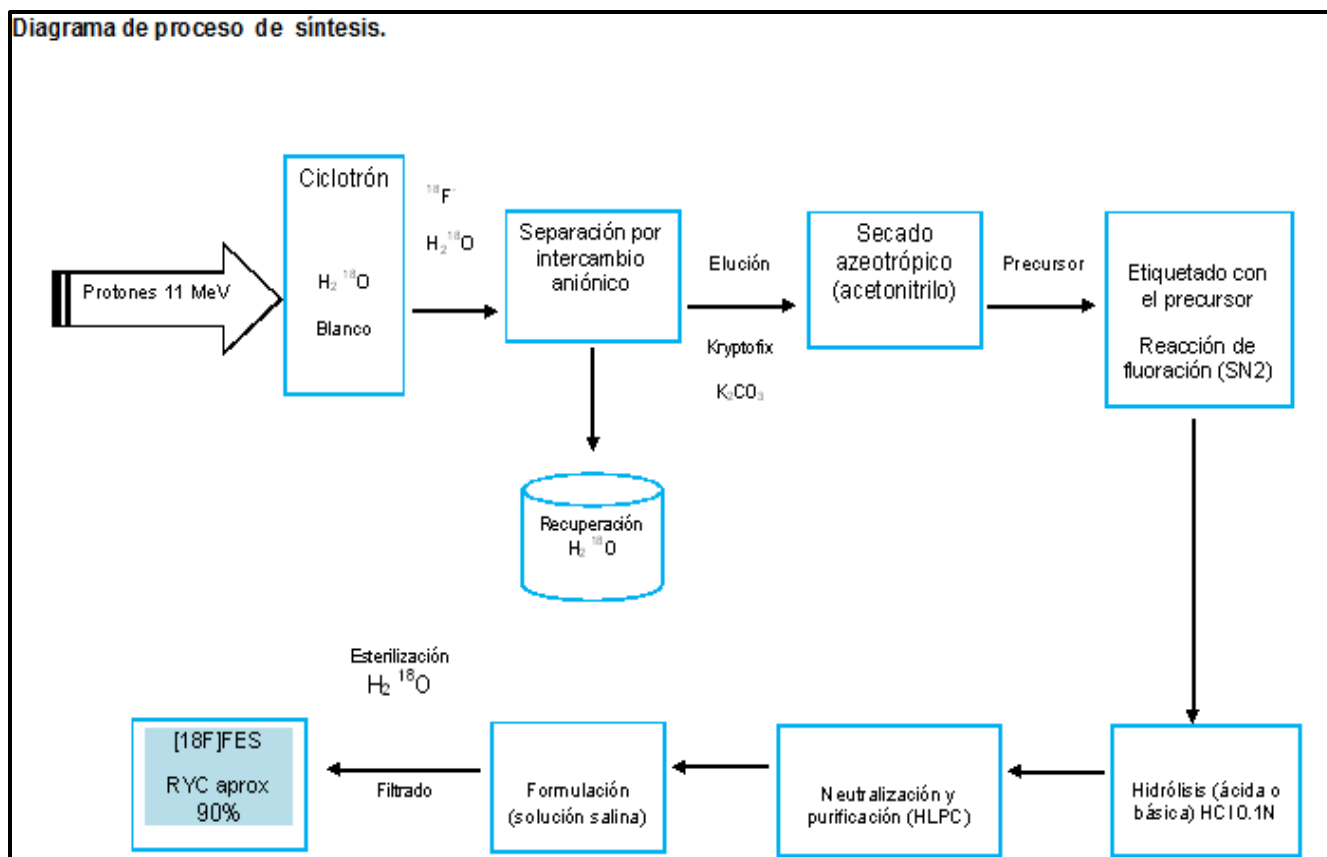


Fig.2.1 Proceso General de Síntesis del 16α - $[^{18}\text{F}]$ Fluoroestradiol ($[^{18}\text{F}]\text{FES}$).

B. Síntesis e hidrólisis.

Consecuentemente, se agrega la solución de Carbonato de Potasio K_2CO_3 /Kryptofix 222 (resina), para formar el compuesto K^+F^- , y remover el agua que solvata al ión $[^{18}F]$, el cual se añade al precursor 3-O-Metoximetil-16 β , 17 β -O-Epiestrol-sulfona cíclica para llevar a cabo la sustitución nucleofílica S_N2 . Se utiliza como solvente acetonitrilo seco.

C. Eliminación de los grupos protectores.

Se lleva a cabo la hidrólisis del metoximetil (MOM), el cual es el grupo protector del intermediario de reacción entre el precursor y el ^{18}F , con HCl 0.1 N.

D. Purificación y formulación.

Los productos colaterales de la reacción como son el carbonato, el fluoruro no reaccionado y el Kryptofix 222 deben eliminarse, lo que se lleva a cabo mediante varios cartuchos de extracción en fase sólida. El producto final $[^{18}F]FES$ se hace isotónico con NaCl concentrado y se esteriliza a través de un filtro antes de su administración.

2.2. Descripción técnica de los equipos utilizados.

▪ Ciclotrón.

A. *Principio de funcionamiento:*

Acelerador de partículas en el cual se inyectan partículas en un campo magnético que las acelera en una trayectoria circular. A medida que las partículas ganan energía, el campo las obliga a recorrer una espiral creciente, saliendo al final proyectadas en línea recta del acelerador.

Ahora bien, la parte interna del ciclotrón se muestra en la figura 2.2:

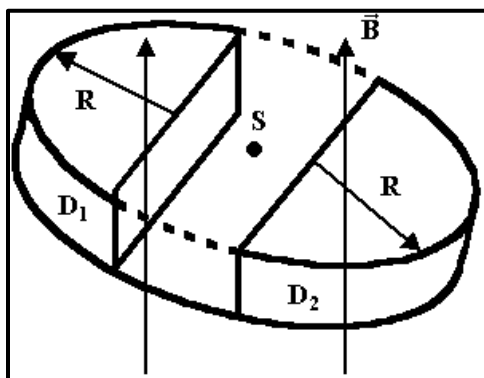


Fig.2.2 Descripción de funcionamiento de un ciclotrón.

- D_1 y D_2 son dos cámaras metálicas de forma semicilíndrica huecas llamadas “dees” (por su similitud con la letra D)
- El punto “S” es dónde se encuentra la fuente de iones situada en el centro de las dees.
- Las dos dees se hallan separadas una de la otra y las dos están en el seno de un campo magnético uniforme y perpendicular (normal) al plano de las dees. Las dos dees están conectadas a los bornes de un circuito eléctrico que crea una diferencia de potencial alterna de frecuencia w .

En la siguiente figura se detalla el funcionamiento del ciclotrón:

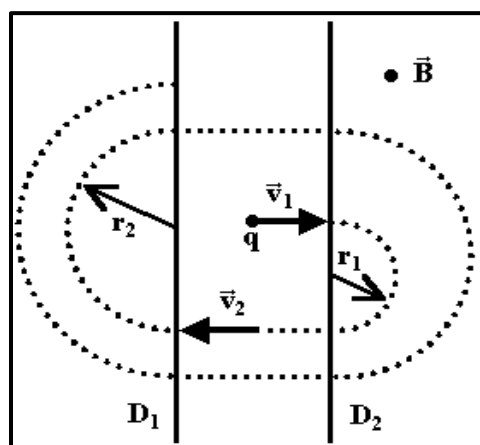


Fig.2.3 Movimiento de una partícula dentro de un ciclotrón.

La partícula cargada que entra en D_2 con velocidad \vec{v}_1 debido a la aceleración que le produce al campo eléctrico existente encuentra las dos dees. Bajo la acción del campo magnético describe una circunferencia de radio r_1 y frecuencia w , es decir:

$$r_1 = \frac{m \cdot \vec{v}_1}{q \cdot \vec{B}} \quad w = \frac{\vec{B} \cdot q}{m}$$

Cuando q sale de D_2 se ha invertido al campo eléctrico siendo la partícula acelerada entre las dos dees, por lo cual entra en D_1 con una velocidad $\vec{v}_2 > \vec{v}_1$ describiendo una circunferencia de radio $r_2 > r_1$:

$$r_2 = \frac{m \cdot \vec{v}_2}{q \cdot \vec{B}}$$

Siendo R el radio de las dees, la velocidad máxima con que sale la partícula es:

$$\vec{v}_{max} = \frac{R \cdot \vec{B} \cdot q}{m}$$

Su energía cinética final será tantas veces mayor que la que corresponde al voltaje aplicado a los electrodos, multiplicado por el número de veces que el ión ha pasado por la región intermedia entre las dees.

$$E_c = \frac{1}{2} m \cdot \vec{v}_{max}^2 = \frac{1}{2} \frac{q^2 \cdot \vec{B}^2 \cdot R^2}{m}$$

B. Partes y componentes :

1. Imán: generan el campo magnético para confinar el haz de partículas y deuterones. (figura 2.4).
2. Fuente de partículas o iones: está conformada por cátodos para la producción de protones y deuterones. Estos iones son insertados radialmente en la zona centro del imán.
3. Sistema de extracción de Haz: se encarga de dirigir el haz de iones hacia el puerto de salida
4. Sistema del Blanco: es el número de puertos de salida, equivale al número de blancos que pueden estar montados para su bombardeo. Algunos modelos permiten el bombardeo simultáneo de dos blancos.

Los blancos habitualmente pueden ser: blanco para carbono, blanco para el nitrógeno – amonía ($^{13}\text{NH}_3$) blanco para el ^{18}F -Fluoruro (^{18}FH), blanco para el ^{18}F en forma de F_2 , blanco para el ^{15}O



Fig.2.4 Interior de un ciclotrón.

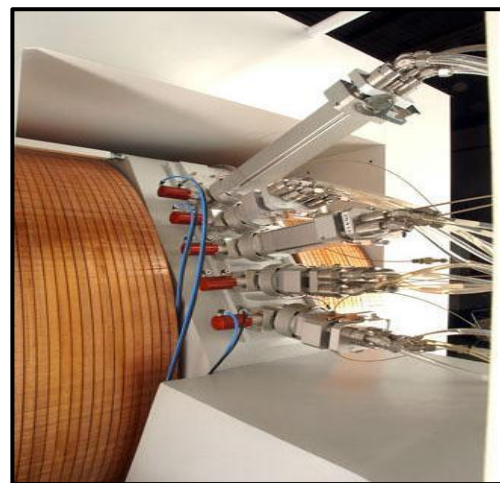


Fig.2.5 Detalle Target

5. Sistema de Radiofrecuencia (RF): alimenta a las “Dees”, que son generalmente el cobre macizo, refrigeradas.



Fig.2.6 Sistema de Radiofrecuencia

6. Sistema de Diagnóstico: todo el sistema de producción de haz debe seguirse mediante lecturas de la intensidad del haz efectuadas en las láminas de extracción de electrones, en el colimador del blanco, en el propio blanco.
7. Sistema de Vacío: su finalidad es la de evitar que los iones acelerados colisionen con átomos de gases residuales presentes en el interior del sistema de aceleración.



Fig.2.7 Bomba para el sistema de vacío.

8. Sistema de Control: actúa sobre el funcionamiento del propio ciclotrón, sobre los blancos y también sobre los módulos de síntesis.



Fig.2.8 PC de control

9. Sistema de refrigeración: como norma general, estará formado por un sistema primario y otro secundario. Los principales componentes son: Intercambiador de calor agua – agua, columna para la desionización del agua, sonda para el control de la resistividad y temperatura, bomba de recirculación. El sistema secundario extrae el calor del primario a través del intercambiador agua – agua. Es importante indicar que en el ciclotrón solo se obtienen los isótopos radiactivos o radionúclidos emisores de positrones (^{18}F , ^{13}N , ^{15}O , ^{11}C).



Fig.2.9 Refrigeración Ciclotrón.



Fig.2.10 Detalle intercambiador agua – agua.



Fig.2.11 Bomba de recirculación.

El ciclotrón que se utilizará en el proceso es el Eclipse HP Cyclotron

El radionúclido que se producirá para sintetizar el $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ es el $[^{18}\text{F}]$ por las propiedades químicas que este posee y dos de estas son: (MOREIRA, 2005)

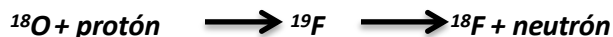
- **1. Reacción nuclear para la producción del $[^{18}\text{F}]$ a partir de la reacción $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$.**

Los radionúclidos artificiales como los que se emplean en la Tecnología PET, son producidos a través de reacciones nucleares. Las reacciones nucleares suceden cuando un núcleo interactúa con una partícula incidente normalmente otro nucleón o un núcleo para generar un núcleo distinto, como la producción de flúor 18.

La reacción del flúor 18 ocurre cuando un protón de alta energía interactúa con un núcleo de oxígeno en un blanco de agua enriquecida, el oxígeno-18 $[^{18}\text{O}]$ capturar al protón para



formar al fluoruro – 19, el cual está en un estado excitado, esto espontáneamente emite un neutrón produciendo al fluoruro – 18. La reacción es:



Esta reacción comúnmente se escribe como $^{18}\text{O}_{(p,n)}^{18}\text{F}$, y es un ejemplo de una reacción nuclear protón – neutrón (p,n). Así el núcleo de oxígeno – 18 (^{18}O) consiste de 8 protones y 10 neutrones. En esta reacción un protón es adicionado al núcleo y un neutrón es emitido, dejando al fluoruro – 18, [^{18}F], el cual posee 9 protones y 9 neutrones.

Después del proceso de irradiación y una vez que se ha generado el flúor – 18, este se hace pasar a través de una resina de intercambio iónico, la separación tiene dos propósitos:

- Recuperar el agua enriquecida H_2^{18}O (material blanco).
- Formación del anión fluoruro en un medio anhídrido, debido a que pequeñas cantidades de agua generan un campo de hidratación alrededor del anión fluoruro que afecta su reactividad (LÓPEZ-DURAN, 2007)

Tabla 2.1 Reacciones nucleares empleadas para producir el [^{18}F]FES

Reacciones nucleares empleadas para producir el [^{18}F]FES utilizando aceleradores de partículas o reactores.
$^{20}\text{Ne}(d, \alpha)^{18}\text{F}$
$^{20}\text{Ne}(d, 2p)^{18}\text{F}$
$^{16}\text{O}(^3\text{He}, p)^{18}\text{F}$
$^{16}\text{O}(\alpha, pn)^{18}\text{F}$
$^{18}\text{O}(p, n)^{18}\text{F}$
$^{20}\text{Ne}(^3\text{He}, n)^{18}\text{Ne}, ^{18}\text{Ne} \rightarrow ^{18}\text{F}$
$^6\text{Li}(n, \alpha)^3\text{H}, ^{16}\text{O}(\text{He}, n)^{18}\text{F}$

La irradiación del agua enriquecida con oxígeno H_2^{18}O , utilizando la reacción (p,n) es la forma más efectiva y la forma más conveniente para producir el ^{18}F en grandes cantidades. Una vez generado el radionúclido se procede a realizar la síntesis del radiofármaco.



▪ **2. Características del radioisótopo ^{18}F .**

El flúor – 18 es por mayoría el radionúclido que cuantitativamente más se utiliza en la tecnología PET, ya que las características nucleares y químicas de este radionúclido son excelentes:

- Para el ^{18}F se puede producir en cantidades de hasta varios curios sin dificultad. Para la producción del $^{18}\text{F}_2$ existen dificultades importantes que hacen más rigurosa su elaboración.
- Su energía de emisión del positrón es de 0.64 MeV (la menor de todos los emisores de positrones con aplicación en PET), lo que conlleva diversas ventajas:
 - ❖ La dosis recibida por el paciente será mucho menor, a diferencia de los casos donde la energía de emisión del positrón sea mayor; dado que la energía depositada hasta la aniquilación será menor en el caso ^{18}F , la dosis absorbida será también inferior.
 - ❖ La distancia recorrida por el positrón hasta su aniquilación será igualmente reducida, esto permitirá obtener imágenes con mayor resolución, ya que la incertidumbre entre el punto de desintegración del radionúclido y de aniquilación del positrón sería menor.
 - ❖ En el proceso de desintegración del ^{18}F no se emiten rayos gamma (γ), que puedan interferir la detección de los fotones de aniquilación, ni partículas (β ó α) que puedan suponer un incremento en la dosis recibida por la paciente.
 - ❖ Su período de semi – desintegración de 109.8 minutos permite:
 - ✓ Llevar a cabo síntesis complejas.
 - ✓ Aplicar protocolos de estudio mediante PET que se prolonguen varias horas, lo que facilita la realización de estudios de farmacocinética y análisis de metabolitos.
 - ✓ El transporte de radiofármacos marcados con el ^{18}F a centros satélite u hospitales que dispongan de un tomógrafo PET.

El uso del radiofármaco ^{18}F lo hace más estable “in – vivo”, ya que la introducción de este elemento en la estructura de una molécula pequeña lleva por lo general a una prolongación de la vida media de ésta en el organismo porque se dificulta su metabolización mediante reacciones de hidroxilación o conjugación, ya que el enlace C – F es más fuerte que el enlace C – H

2.3. Proceso de síntesis química del radiotrazador.

La síntesis química del radiofármaco se lleva a cabo en un módulo de síntesis química, al cual es transportado el radionúclido mediante una serie de conexiones entre el ciclotrón y el módulo de síntesis.

2.3.1. Características de los reactivos.

- Disponer de un precursor adecuado que tenga 3 características básicas:
 - Centro reactivo sobre el que se produzca el ataque del radionúclido emisor de positrones durante la síntesis, en el que los grupos que no deben reaccionar estén protegidos con algún sustituyente adecuado.
 - Tener los carbonos asimétricos en la configuración adecuada.
 - El precursor no se altere en el transcurso de la reacción.
- El radionúclido reacciona con el precursor atacando el centro reactivo e incorporándose a la molécula.
- Una vez producida la reacción de incorporación del radionúclido, deben eliminarse los grupos protectores, para de esta forma obtener ya el producto deseado.
- Se sabe que las reacciones químicas no transcurren con una eficiencia del 100%, siempre se tiene en la mezcla de reacción productos secundarios, por lo que el paso final de la síntesis radicarán en la purificación del compuesto y su formulación como solución inyectable. (PEÑUELAS-SANCHEZ, 2001)

La reacción para llevar a cabo la síntesis química de un radiofármaco PET es a través de sustitución nucleofílica bimolecular S_N2 . Un esquema general de este tipo de síntesis química es:

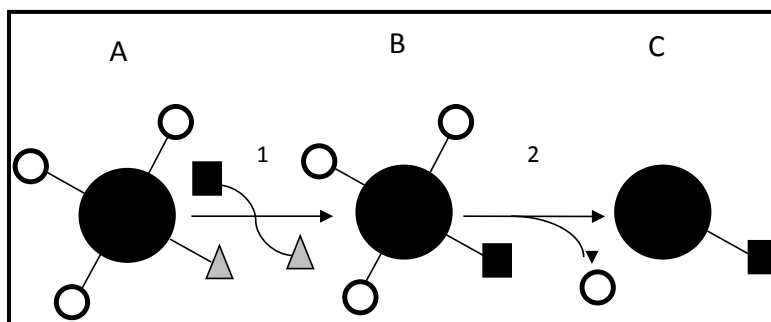


Fig.2.12 Esquema general de reacción para la síntesis de radiofármacos PET.

- A. Cuenta con tres grupos protectores \bigcirc y un grupo saliente \blacktriangle que puede considerarse el centro reactivo. En la reacción de incorporación (1) éste, o una forma reactiva del mismo \blacksquare reacciona con el precursor uniéndose a él covalentemente, produciéndose la eliminación del grupo saliente.



- B. Se obtiene de este modo el producto intermedio, que es sometido a una reacción de desprotección (2) para eliminar los grupos protectores:
- C. Se obtiene el producto final, que debe ser purificado para separarlo de los restos del precursor y el radionúclido sin reaccionar, los productos intermedios y restos de otros subproductos de la reacción. (PEÑUELAS-SANCHEZ, 2001)

Algunas dificultades que son notables en cada uno de los pasos de la reacción son:

- Obtener el precursor adecuado.
- Conseguir una reacción directa con pocos productos secundarios
- No presentar alteraciones de la configuración de los centros quirales.
- Lograr un sistema de purificación que permita separar eficientemente el producto final de otros productos secundarios o restos de reactivos.
- Lograr que el proceso sea fácilmente automatizable.

Habitualmente los métodos para llevar a cabo la radiofluoración son divididos dentro de las reacciones de sustitución electrofílica y nucleofílica, de acuerdo a la forma química que se necesite tener el ^{18}F y puede ser completada por métodos adicionales indirectos. Asimismo los métodos de sustitución nucleofílica son los más empleados debido a su alta actividad específica, alto rendimiento radioquímico y mayor disponibilidad. (STOCLINK, 1998)

2.3.2. Características de la reacción.

La reacción de la síntesis química para la obtención del radiotrazador [^{18}F]FES es:

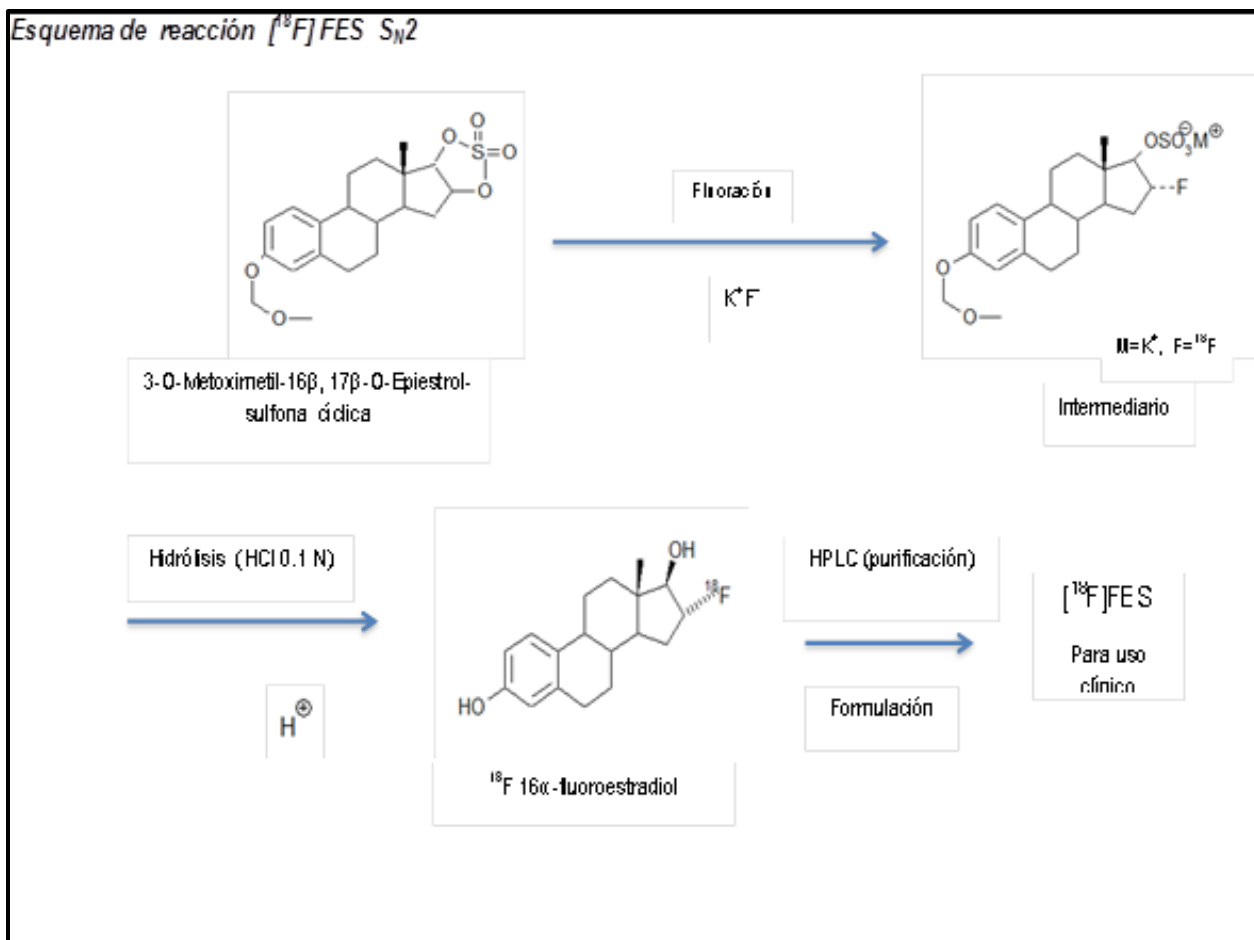


Fig.2.13 Esquema de la reacción química [^{18}F]FES

La reacción de Fluoración es la primera reacción que se lleva a cabo, lo que ocurre es que el precursor 3-O-Metoximetil-16 β , 17 β -O-Epiestrol-sulfona cíclica reacciona con el compuesto K^+F^- el resultado es que el ión ^{18}F abre el anillo del grupo saliente, en este caso es grupo sulfona y se une al precursor de forma covalente, lo cual produce la eliminación de este grupo.

Se obtiene entonces el intermediario de reacción, el cual por medio de una reacción de desprotección con HCl elimina al grupo protector Metoximetil (MEOM), de esta forma se obtiene el producto final 16 α -[^{18}F]Fluoroestradiol ([^{18}F]FES), el cual es purificado mediante una columna HPLC para separarlo de los restos del precursor y el radionúclido sin reaccionar, los productos intermediarios y restos de otros subproductos de la reacción.



2.3.3. Características de un proceso de síntesis automatizada.

Los módulos de síntesis química son sistemas equipados con diversos componentes de uso bastante habitual en los laboratorios (válvulas, líneas de conducción, reactivos, sistemas de evaporación, cromatografía y purificación), los cuales bajo el control de una computadora pueden realizar de forma automática una serie de procesos de síntesis orgánicas e inorgánicas.

Con estos se ha conseguido simplificar enormemente el marcaje de aquellos radiotrazadores de uso clínico que no pueden ser obtenidos directamente desde el blanco del ciclotrón en la forma química definitiva.

Entre otras ventajas, los módulos de síntesis química ofrecen un menor riesgo de exposición del personal a la irradiación durante el proceso de síntesis, debido a que en ella no participa activamente ningún operario.

También ofrecen una mayor eficacia y rendimiento. El control por computadora de los procesos de síntesis ofrece un medio de reproducir con un alto nivel de fiabilidad los diferentes procedimientos y controlar simultáneamente dos procesos de síntesis distintos (ver figura 2.14). Por último, la simplicidad del sistema, su fácil configuración, mantenimiento barato y rutinario, además de la flexibilidad del hardware y software, de los equipos hacen posible también otras opciones de marcaje y un reducido uso del espacio. (HERVÁS, 2009).

El módulo de síntesis que se utilizará en el proceso de síntesis del $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ es el **Explora GN**.

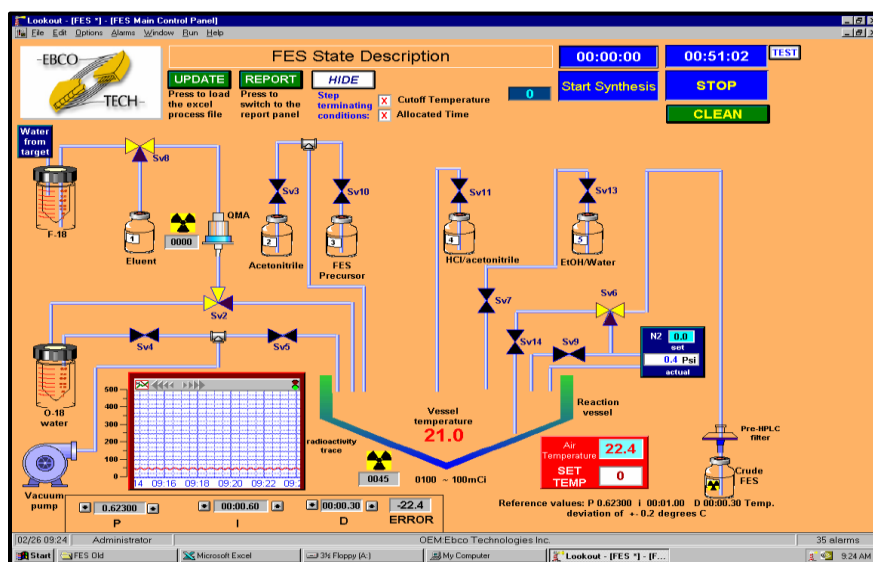


Fig.2.14 Esquema de la Unidad de síntesis automatizada



2.4. Métodos de purificación.

2.4.1. Pruebas de purificación.

▪ Pureza química y Radioquímica:

La pureza de los productos generalmente se establece utilizando cromatografía líquida (Cromatografía Líquida de Gran Rendimiento HPLC), con los detectores apropiados para medir las masas e impurezas químicas (UV y/o detectores de índice refractivo) y detector de flujo de radioactividad. En este caso se utilizara el equipo Explora LC, el cual es un cromatógrafo de líquidos

- Actividad específica: Muchos radiofármacos PET se requiere que sean producidos en actividades muy específicas (usualmente >37000 GBq/mmol) debido ya sea a las preocupaciones de toxicidad o la posibilidad de que la masa fría pueda saturar el sistema y obscurecer la especificidad de la señal PET. La actividad específica usualmente está determinada utilizando CLGR (HPLC), por comparación de la intensidad de pico medido con una curva de absorbencia normal para cantidades medidas del compuesto no etiquetado.

▪ Análisis del solvente residual:

La mayoría de la radioquímica para producir los radiofarmacéuticos flúor-18 involucra, ya sea en la síntesis o pasos de **purificación**, el uso de solventes orgánicos con niveles variados de toxicidad. Los niveles muy bajos de estos solventes se permiten en las formulaciones finales y esto se mide utilizando Cromatografía de Gases (CG), las alícuotas del producto final son analizadas por CG y las alturas pico comparadas con las inyecciones de cantidades conocidas de normas de todos los solventes potenciales involucrados.

▪ Prueba de pH:

El pH de los productos formulados finales se mide utilizando papel de pH o un medidor de pH.

▪ Prueba de pirógeno:

Antes de liberar todos los radiofármacos PET deben demostrar que tienen niveles de seguridad de endotoxinas. Muchos pero no todos se pueden probar utilizando una unidad de prueba de endotoxina portátil y que haya sido aceptada por las autoridades reglamentarias (GOPAL, 2010).



Capítulo III:

“Descripción técnica de la síntesis del radiofármaco [¹⁸F]FES”



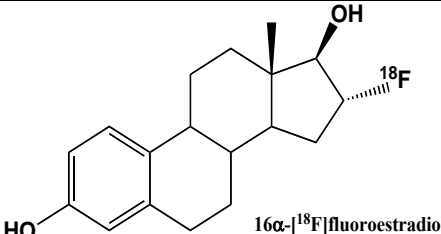
3. Capítulo III. “Descripción técnica de la síntesis del radiofármaco [^{18}F]FES”.

Es importante mencionar que la síntesis química del radiotrazador [^{18}F]FES se realizó en colaboración entre la empresa JUAMA S.A de C.V en el área de Investigación y Desarrollo dirigido por la QFB Yara María Alcalá Martín del Campo y, la Universidad Ann Arbor de Michigan (USA), en el departamento de Radioquímica y Radiofarmacia dirigido por el Dr. Michael R. Kilbourn.

3.1. Generalidades de la síntesis química del radiofármaco.

Algunas características químicas del [^{18}F]FES son:

Tabla.3.1 Ficha química de [^{18}F]FES

Nombre Químico	16 α -[^{18}F] fluoro-17 β -estradiol
Nombre IUPAC	13S,17R-16-fluoranil-13-metil 6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-decahidrociclopenta[a]fenantreno-3,17-diol
Sinónimos:	16 α -[^{18}F] FES, [^{18}F]FES
Peso Molecular	289.37 gmol/mol
Formula Molecular	C ₁₈ H ₂₃ FO ₂
Abreviación	[^{18}F]FES
Estructura Química	

La síntesis química de forma general se lleva a cabo de la siguiente manera:

- La síntesis comienza sin la adición de un vehículo.
- El ión [^{18}F] se obtiene del ciclotrón médico.
- El ión acuoso [^{18}F] fluoruro es convertido a [^{18}F] fluoruro de potasio en acetato de nitrilo anhídrido y este reacciona con el precursor 3-O-metoximetil-16, 17-O-sulfuril-16-epiestrol.

- El producto intermedio marcado con [^{18}F] se hidroliza con ácido clorhídrico para eliminar al grupo protector 3-O-metoximetil y.
- El producto final se purifica por cromatografía líquida a alta presión en fase reversa (HPLC) y se formula en solución salina con <5% de etanol.
- El producto [^{18}F]FES es sometido a análisis de control de calidad

Esto es:

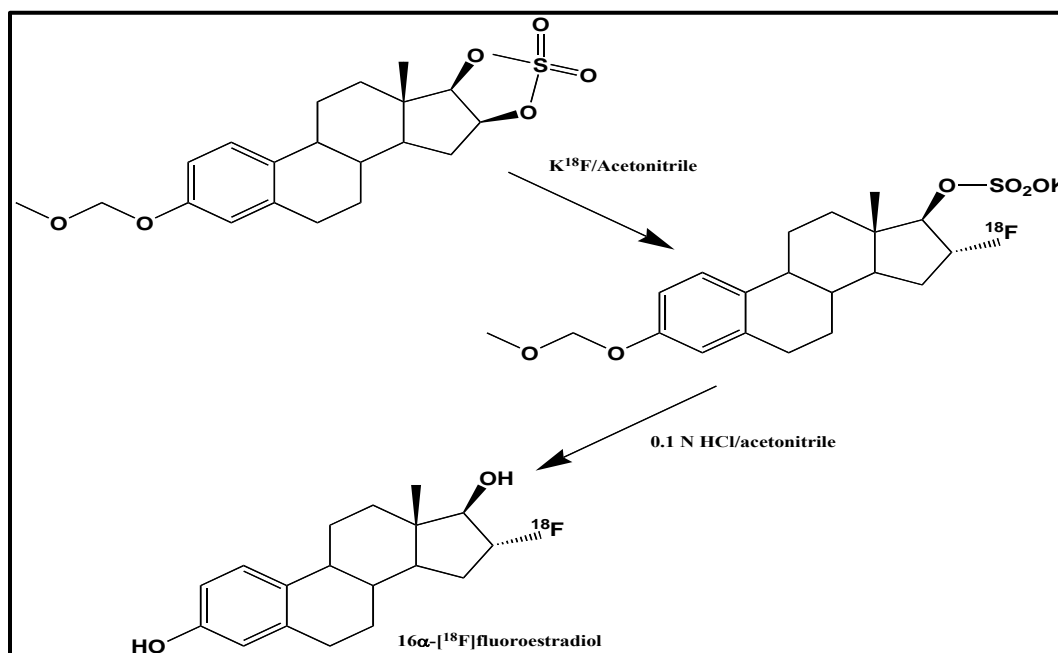


Fig. 3.1 Pasos de la síntesis química del [^{18}F]FES.

3.2. Procedimiento de la síntesis

Es importante mencionar que las síntesis radioquímicas, se realizan con el equipo en condiciones óptimas y en una instalación autorizada para el uso de materiales radioactivas y con personal capacitado. Además del uso del adecuado equipo de protección personal en todo momento durante el proceso de síntesis y por último se debe asegurar que todas las regulaciones de seguridad deben ser seguidas.

3.2.1. Producción del ión [^{18}F] fluoruro.

- El ión [^{18}F] fluoruro es producido por irradiación mediante un ciclotrón.
- Se utiliza agua enriquecida con oxígeno - 18 (H_2^{18}O), contenida en un blanco con un cuerpo de metal compuesto por plata, niobio, o tantalio, con gas inerte (He) sobrepresurizado.

- El volumen típico del blanco es de 1 a 3 mL. Las condiciones de irradiación son variables, dependiendo de la cantidad de radiactividad deseada al inicio de la síntesis química.
- La producción del radioisótopo se llevó a cabo en un ciclotrón General Electric Medical Systems PET trace 6, 17 MeV protones/8 MeV deuterones. (figura 3.2):



Fig. 3.2 Ciclotrón General Electric Medical Systems PET trace 6, 17 MeV protones/8 MeV deuterones.

Tabla.3.2 Características del ciclotrón.

Equipo	
Ciclotrón	General Electric Medical Systems PET trace 6 17 MeV protones/8 MeV deuterones Software: propio, computadora basada en un programa UNIX.
	Alternativa: Siemens Eclipse, 11 MeV protones únicamente.



Blanco	Blanco con cuerpo de plata con hoja fina de metal Havar.
	Alternativas: Blanco de pequeño volumen de niobio (GEMS). Blanco de pequeño volumen de tantalio (Siemens).
Reactivo	
Agua enriquecida con Oxígeno-18, >98% de pureza isotópica, Fuente: HYOX18 Rotem Industries Ltd Rotem Industrial Park P.O. Box 9046 Beer Sheva 84 190, Israel	Cantidad: 1.8 mL

▪ Condiciones de irradiación:

Se utilizó una corriente de 30 μA , con un tiempo de irradiación de 40 minutos. En este tiempo fueron producidos 55 GBq del ión $[^{18}\text{F}]$ fluoruro. Sin embargo, se puede disponer de cantidades más altas del $[^{18}\text{F}]$ incrementando corriente (los μA en el blanco) o incrementando los tiempos de irradiación.

La capacidad de producir el ión $[^{18}\text{F}]$ depende del ciclotrón y el diseño del blanco del agua.

3.2.2. Preparación del reactivo $[^{18}\text{F}]$ KF/kryptofix – 222.

El ión acuoso $[^{18}\text{F}]$ fluoruro que se obtiene del ciclotrón, fue convertido para formar el complejo de $[^{18}\text{F}]$ fluoruro de potasio/kryptofix – 222 en una caja de síntesis radioquímica, mediante el siguiente proceso:

1. El volumen completo del blanco de agua enriquecida con oxígeno – 18 (H_2^{18}O) que fue de 1.8 mL, fue trasladado a un cartucho de intercambio de iones ligeros QMA, que absorbieron el ión $[^{18}\text{F}]$ fluoruro del agua.
2. Los iones fueron extraídos del cartucho QMA con una mezcla de 7 mg de K_2CO_3 y 22 mg de kryptofix – 222 en 600 μL de una mezcla de 1:1 $\text{H}_2\text{O}_{\text{desionizada}}/\text{CH}_3\text{CN}$.
3. El líquido obtenido, se evapora utilizando una temperatura de 100°C y vacío.
4. El residuo se seca azeotrópicamente por dos adiciones subsecuentes y evaporaciones de $\text{CH}_3\text{CN}_{\text{anhídrido}}$



Tabla.3.3. Reactivos para preparar la solución de K₂CO₃/ kryptofix – 222

Reactivos y material	Proveedores de los químicos
Blanco de agua (1.8 mL) Agua enriquecida con Oxígeno-18, >98% de pureza isotópica.	HYOX18 Rotem Industries Ltd Rotem Industrial Park P.O. Box 9046 Beer Sheva 84 190, Israel
Cartucho de intercambio de iones ligeros QMA	Los cartuchos QMA-light se obtienen de: Waters Inc. Part #WAT023525 34 Maple Street Milford, MA 01757 tel 508-478-2000
Carbonato de potasio (7 mg)	Fabricante: Green Mountain Co., Ltd. 99.5 % min. CAS No.:584-08-7 http://chemicals.greenmountain.com
Kryptofix 222 (22 mg)	Kryptofix-222 Sigma-Aldrich Catalog #291110 www.sigmaaldrich.com/mexico.html
Acetonitrilo anhidro (300 µL)	Fabricante : Honeywell, Burdick & Jackson 1953 South Harvey Street Muskegon, MI 49442
Agua desionizada (300 µL)	Sistema de agua Desionizada Milli-Q Integral Water Purification System México Millipore, S.A. de C.V.Calle 5, No. 7 Frac. Industrial Alce, Blanco. Naucalpan de Juarez, Edo, de México. C.P. 53370. Tel/Fax (55) 5576 9688 Fax 5576 8706 Fax Pedidos 5359 4387 E.mail: tech_service@millipore.com

Para la síntesis del [¹⁸F]FES se utiliza un módulo de síntesis radioquímica automatizada; este módulo está contenido en un equipo llamado “celda caliente” para realizar las corridas de pruebas experimentales. El módulo consiste en un recipiente único de reacción con capacidad para calentarse a 110°C.



La síntesis química del $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ fue realizada en un módulo General Electric Medical Systems (GEMS) Tracer LAB FX_{FDG} y en el sistema nuclear Interface F – 18 (figura 3.3, 3.4, 3.5). Este sistema incluye la columna de purificación HPLC y los sistemas de formulación necesarios para completar el procedimiento de síntesis.



Fig. 3.3 Módulo de síntesis que se encuentra dentro de la “celda caliente”.

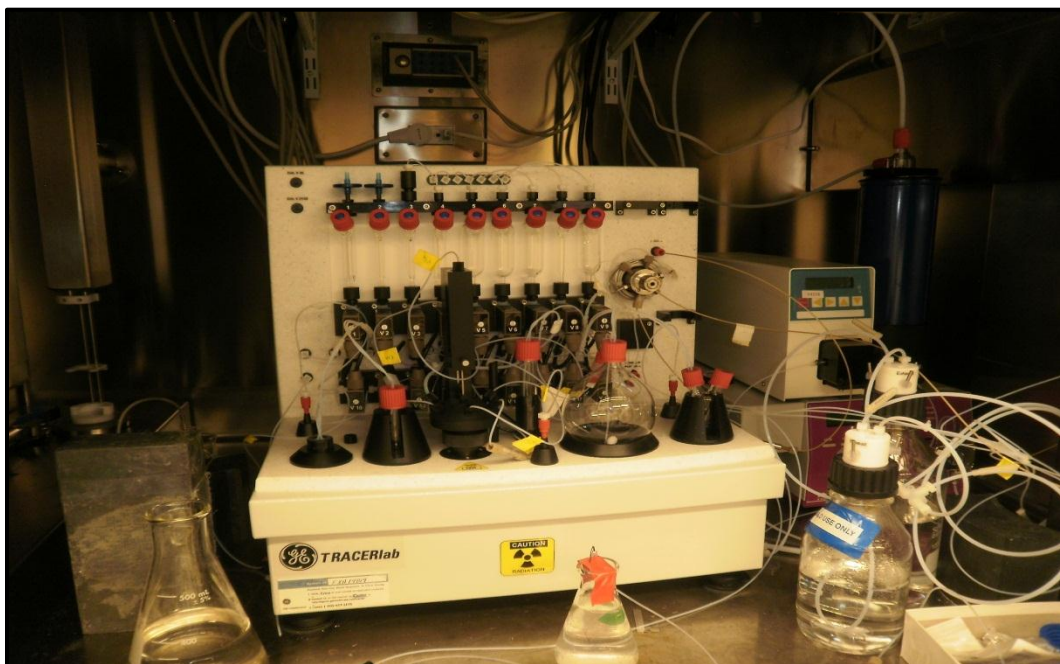


Fig. 3.4 Módulo de síntesis química GEMS TracerLab FX N para radiotrazadores marcados con Flúor 18.

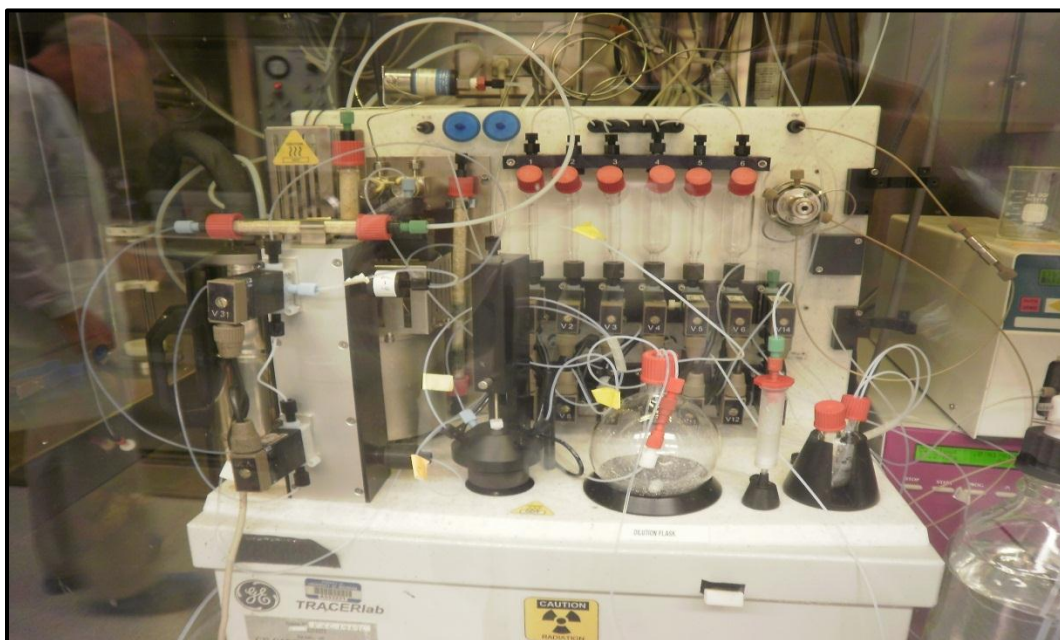


Fig. 3.5 Módulo de síntesis en funcionamiento.



3.2.3. Síntesis del radiofármaco [^{18}F]FES.

1. Al residuo seco de [^{18}F] KF/kryptofix – 222 se le agrega 2 mg de 3-O-Metoximetil-16, 17-O-sulfuril-16-epiestrol en 2 mL de $\text{CH}_3\text{CN}_{\text{anhídrido}}$. El recipiente de reacción es sellado y calentado a 105°C durante 10 minutos.
2. Se evapora el acetonitrilo (CH_3CN) usando un flujo lento de nitrógeno (N) a presión negativa. Al residuo se le agrega 1.5 mL de una solución de ácido clorhídrico (HCl) de 0.1N en acetonitrilo (CH_3CN), el cual es después evaporado hasta que se seca utilizando un flujo de nitrógeno (N) y vacío. (HIDRÓLISIS)
3. El paso de la hidrólisis se repite dos veces más.
4. El residuo es disuelto después en una mezcla de 70:30 etanol salina y es sujeta a purificación por HPLC preparativo (LIM, 1996; RÖMER, 1999).

NOTA: La solución 0.1 N de HCl/ CH_3CN se preparó mezclando 9 partes de CH_3CN con 1 parte de 1 N de HCl.

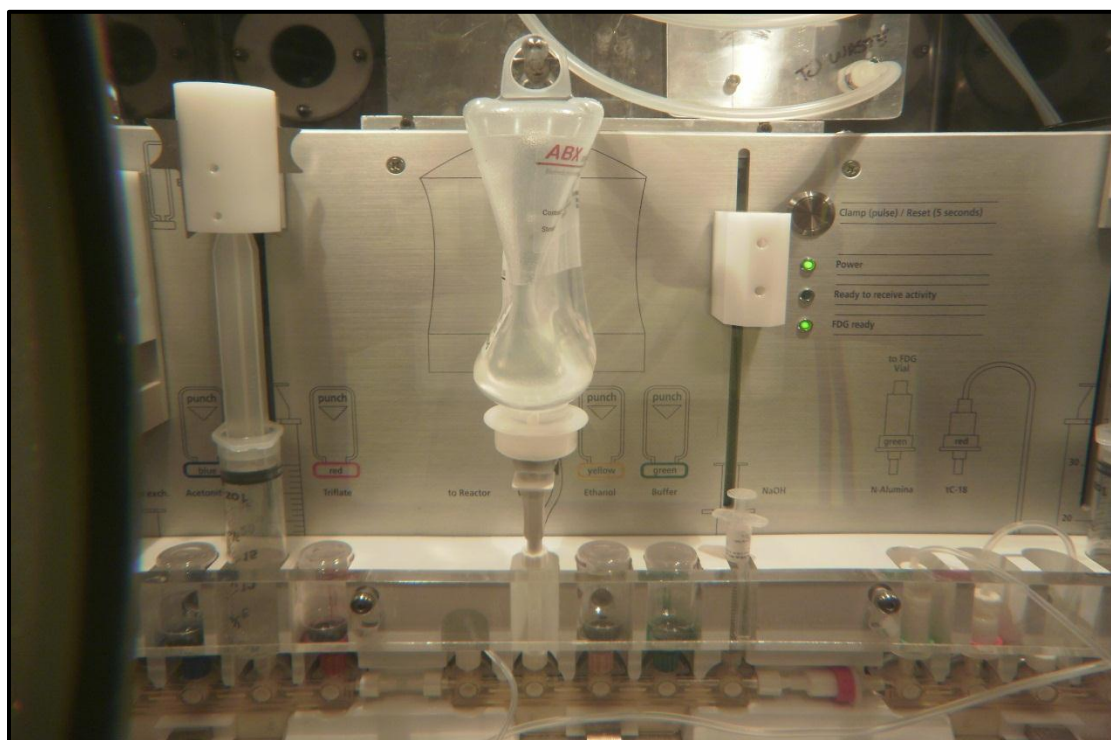


Fig. 3.6 Módulo de síntesis tipo cassette.



Tabla.3.4. Reactivos utilizados para la síntesis S_N2 del radiotrazador.

Reactivos y material	Proveedores de los químicos
3-O-metoximetil-16,17-O-sulfuril-16-epiestrol (2 mg)	3-O-methoxymethyl-16,17-O-sulfuryl-16-epiestrol (Catálogo #1900) está disponible en: ABX Advanced Biochemical compounds GmBH Heinrich-Glaeser-Strasse 10-14 01454 Radeburg Germany, Teléfono +49/ 35 25/ 40 41 60 Fax +49/ 35 28/ 40 41 65
Acetonitrilo anhidro (2 mL)	Fabricante : Honeywell, Burdick & Jackson 1953 South Harvey Street Muskegon, MI 49442
Ácido Clorhídrico (HCL) 1N (1.5 mL)	Sigma Aldrich H7020-ASC HCl 38.0% http://www.sigmaaldrich.com

3.2.4. Purificación del [¹⁸F]FES.

La purificación del producto crudo se llevó a cabo por HPLC semi preparativo (figura 3.7):



Fig. 3.7 Sistema HPLC Nucleosil 120-7 C18 (250 mm X 4.6 mm).

1. El producto proveniente de la reacción de hidrólisis fué inyectado a la columna del HPLC y de la columna se extrajo con una mezcla de 70:30 etanol: solución salina isotónica con una velocidad de flujo de 1.5 mL/min.
2. El producto fué extraído aproximadamente a los 18 minutos después de la inyección y recolectado en un tubo limpio de fondo redondo.



Tabla.3.5. Características de la columna de purificación HPLC.

Equipo	
Columna HPLC	Nucleosil 120-7 C18, 250 mm x 4.6 mm Macherey- Nagel Inc 2850 Emrick Blvd. Bethlehem, PA 18020 1-484-821-0984

3.2.5. Formulación del [¹⁸F]FES.

1. El [¹⁸F]FES purificado es formulado por inyección al diluir la fracción aislada del HPLC con suficiente solución salina isotónica (100µL de 500 mg de sal isotónica /mL de ácido ascórbico grado USP) para reducir el contenido de etanol residual a <5%.
2. A la solución del producto diluido se le empujó (con nitrógeno N a presión) a través de un filtro de 22 micrones hacia una ampolleta estéril del tamaño apropiado.

Tabla.3.6. Características del reactivo y material para la formulación del radiotrazador

Materiales y reactivos	
Inyección de ácido ascórbico, USP	Por 1 mL: 500 mg ácido ascórbico en agua para inyección.
Ampolletas de 50 mL, estériles para conservar.	Bioniche Pharma USA LLC Lake Forest, IL 60045

3.2.6. Eficiencia y perfeccionamiento de la síntesis.

La eficiencia de producción esperada basada en literatura es de 45% corregida por el decaimiento, con un tiempo de síntesis 90 minutos. Ahora bien, la eficiencia de producción aislada de aproximadamente 25%

- Potencial para mejorar la síntesis del [¹⁸F]FES:

Una mejora para el primer paso de la síntesis que es, la reacción del ión del [¹⁸F] con el precursor, puede ser obtenida mediante la selección y la aplicación de un sistema alternativo de solvente y base, donde puede ser usado una combinación del ión [¹⁸F] fluoruro de cesio en solventes protónicos. Esto puede incrementar la eficiencia de producción del flúor mediante la adaptación de este nuevo sistema de solventes. Sin



embargo, el desarrollo de un esquema simplificado de aislamiento y purificación utilizando cartuchos de extracción en fase seca (SPE) en lugar del HPLC preparativo, puede ahorrar aproximadamente 20 min de tiempo en la síntesis.(KIM, 2006).



Capítulo IV

“Descripción técnica de los métodos generales de análisis para la purificación del radiofármaco $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ ”



4. Capítulo IV. “Descripción técnica de los métodos generales de análisis para la purificación del radiofármaco [¹⁸F]FES”.

4.1. Análisis de control de calidad.

Los métodos y procedimientos generales de análisis para la purificación del radiofármaco [¹⁸F]FES son:

4.1.1. Pureza e identidad radioquímica

La identidad y la pureza radioquímica del producto final [¹⁸F]FES es determinada mediante el sistema de análisis HPLC, donde antes de finalizar la síntesis del radiotrazador [¹⁸F]FES, el equipo HPLC se establece en condiciones de la columna y del flujo.

La viabilidad del sistema es validada a través de inyecciones múltiples de una solución estándar de FES frío, ya que, valida el tiempo de retención relativa como las propiedades de respuesta del método HPLC.

Después de que es completada la síntesis del [¹⁸F]FES se toma una alícuota de 10 a 20 µL de la solución final que fue inyectada en la columna analítica de HPLC y extraída de la columna con una solución de 40% de acetonitrilo/ 60% agua, con una velocidad de flujo de 1.0 mL/minuto. El tiempo de extracción es de 7 a 9 minutos.

La radioactividad es monitoreada con un detector adecuado para el flujo de radiación gamma y con un detector de flujo UV.

Tabla. 4.1. Características del equipo utilizado para la prueba de pureza e identidad radioquímica.

Equipo	Cantidad	Especificación
Sistema HPLC (bomba, detector UV, inyector automático, sistema de recolección de datos).	1	Buenas condiciones de trabajo, solvente terciario con capacidad de gradientes. Shimadzu LC-2010HT o equivalente. Capacidad para 4 bombas de solvente. Rangos de flujo 0.001- 5 mL/min Desgasificador integrado, auto muestreo y



		detector UV.
Detector de conteo de flujo Gamma	1	Un Modelo de conteo de flujo Bioscan o su equivalente: Instalado en el HPLC.
16-FES estándar para HPLC	100 µL	ABX: solución aprobada, que no haya expirado
Fórmula de la droga del producto del Blanco "PET"	100 µL	Aprobado, que no haya expirado
Inyector Automático de ampollitas.	2	Ampolletas de 1.5mL con inserto de 300 µL
Fase Móvil	>250mL	40% v/v acetonitrilo/agua
Columna HPLC	1	Nucleosil 100-5 C18 (250 mm x 4.6 mm) o equivalente.

4.1.1.1. Procedimiento para determinar la identidad radioquímica.

1. Se prepara la fase móvil mezclando 400 µL de CH₃CN (grado HPLC) con 600 µL de agua desionizada. Se desgasifica la fase móvil y se conecta al sistema HPLC.
2. El volumen de solvente en todas las fases móviles debe ser de por lo menos 250mL, se verifica que la identidad y que la colocación de todas las botellas de solvente estén basadas en la especificación del solvente.
3. Se enciende el HPLC pero no se arranca la bomba. Se retira la columna que está en el instrumento. Se conectan las líneas de entrada/salida de la columna a los conectores del "bypass".
4. Se purga cada línea para asegurar un abasto puro y consistente de elementos de la fase móvil a la bomba.
5. Cuando se complete la purga se carga el programa de la computadora para el método FES, y permite que la bomba trabaje de 2 a 5 minutos. Durante este tiempo se verifica la ausencia de fugas en todas las conexiones del sistema.
6. Se apaga la bomba y se instala la columna analítica de FES y se vuelve a encender la bomba.
7. Se verifica que la presión de la bomba se incremente y se iguale mientras que de la misma forma el nivel del flujo se incremente y se iguale mientras que de la misma forma el nivel del flujo se incremente y se iguale, permitiendo que la columna llegará al equilibrio por un tiempo de 30 a 60 minutos. Se presentaron fluctuaciones de presión menores a 10 psi. Si las fluctuaciones son mayores a 10 psi indican problemas que deben de ser planteados antes de continuar con el análisis



8. Se colocan 200 μL de una solución estándar de 16-FES en un inyector automático de ampollas y se coloca la ampolla en la charola del inyector automático. Se colocan 200 μL del producto del blanco “PET” en el inyector automático de ampollas y se coloca la ampolla en la charola del inyector automático.
9. Se realizan las siguientes inyecciones en orden:
 - Blanco (Agua Desionizada)
 - Estándar FES.
 - Estándar FES.
 - Estándar FES.
 - Blanco.
10. Una vez completadas las corridas del blanco y el estándar FES, se obtiene la información y se calcula el área promedio bajo la curva del FES y de la Desviación Relativa Estándar (DRE) de las crestas estándar. La DRE debe de ser menor a 5%. Las corridas del blanco no deben de tener crestas significantes fuera de las que representen el volumen inutilizable. Estas inyecciones de blancos y estándares fueron realizadas para cada una de las síntesis y constituyen la validación de la adecuación del sistema del equipo para el análisis deseado.
11. Cuando el $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ estuvo listo, se administra una muestra de 100 μL en una nueva ampolla para el inyector automático y se colocó en la charola. El volumen específico de la inyección de $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ fue el mismo para todas las inyecciones estándar, y estas en orden son:
 - Fármaco $[^{18}\text{F}]\text{FES}$
 - Fármaco $[^{18}\text{F}]\text{FES}$
12. Cuando las corridas se completan, se obtiene información y se calcula el área promedio por debajo de la cresta del producto (UV) y la desviación relativa estándar (DRE) para las crestas de $[^{18}\text{F}]\text{FES}$. La DRE fue menor del 5%.
13. La concentración C_p (masa fría/volumen) de 16-FES en el producto $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ se calculó con la siguiente fórmula:

$$C_p = \frac{(C_{st} * A_{st})}{A_p}$$

Dónde:

C_p = es la concentración de $[^{18}\text{F}]\text{FES}$

A_p = es el área bajo la cresta UV del fármaco $[^{18}\text{F}]\text{FES}$

C_{st} = es la concentración de la solución de referencia estándar de 16 – FES

A_{st} = es el área bajo la cresta de referencia estándar UV de FES



Este método de análisis requiere el uso de un estándar de FES en una concentración en donde la respuesta del detector este en el mismo rango que la cresta esperada del producto. Para conocer la concentración apropiada para el FES requiere el desarrollo de una curva estándar apropiada para la respuesta de sensibilidad del detector UV dentro el rango de concentración esperado de la muestra [¹⁸F]FES.

14. Se comparan los tiempos de retención de la cresta de la solución estándar del FES con el tiempo de retención de la cresta radioactiva del producto [¹⁸F]FES en el radiocromatograma, para verificar la identidad radioquímica calculando un tiempo relativo de retención (TRR), utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{TRR} = \frac{\text{Tiempo de la cresta de Retencion de la Radioactividad del [18F]FES}}{\text{Tiempo de la cresta estandar de referencia FES}}$$

El valor de TRR debe de ser de 0.9 a 1.1

15. Se determina el porcentaje del área para la cresta del producto, esta se obtiene al hacer la suma relativa de todas las crestas posibles de identificar, por lo tanto, esta es la pureza radioquímica.

4.1.2. Identidad radioquímica.

La identidad radioquímica se determina al hacer una comparación de los tiempos de retención de la cresta de la reactividad y, esta se realiza durante la determinación de la pureza radioquímica y la cresta UV de la muestra estándar.

También se puede obtener mediante la inyección, al equipo de análisis HPLC, en una mezcla de producto radioactivo [¹⁸F]FES y una muestra del FES frío, entonces se verifican que las crestas frías y calientes fueron eluidas en el mismo tiempo de retención.

Esto se debe realizar durante las corridas de validación de las síntesis, aunque algunas veces puede ser realizado después de que la dosis radioactiva final, haya sido liberada para su uso.

4.1.3. Identidad del radionúclido.

La identidad del radionúclido producido como Flúor – 18 determinada mediante la prueba de un alícuota del producto en un intervalo de tiempo especificado, y se hace con un calibrador de dosis, en una alícuota de la solución del producto final es medido en dos tiempos, uno a 20 minutos y otro a 20 minutos. La tasa de decaimiento debe de ser consistente con el Flúor – 18 (vida media de 105 – 110 min).



Tabla. 4.2. Características del calibrador para la prueba de identidad del radionúclido.

Equipo	Cantidad	Especificación
Calibrador de dosis	1	Calibrador de dosis CRC-25R Capintec, Inc.

4.1.4. Pureza del radionúclido.

La pureza del radionúclido se determina mediante el análisis de la emisión en el espectro gamma de una alícuota del producto final. Los resultados son validados durante las corridas de calificación inicial, la prueba puede o no puede ser realizada antes de la liberación de cada lote del fármaco para el PET pero puede ser realizada en una base regular programada, por ejemplo, cada 3 meses en los lotes representativos del producto.

Tabla. 4.3. Características del equipo utilizado para la prueba de pureza del radionúclido.

Equipo	Cantidad	Especificación
Analizador Multicanal (MCA)	1	Calibrado y limpio. Analizador Multi-canal: AccuSync Spectro Analyzer 1024-canal MCA Modelo#SA-1000-1S AccuSync Medical Research Corporation.
Impresora Térmica	1	DPU-414, lista para su uso
Viales de automuestra HPLC	1	Limpias

4.1.4.1. Procedimiento para determinar la pureza del radionúclido.

A. Procedimiento de prueba.

1. Se coloca un pequeña cantidad (menos de 37 MBq = 1 mCi) del radiofármaco [¹⁸F]FES en un auto muestreador para viales HPLC.
2. Con base a parámetros de tiempo y de acuerdo a la concentración de la actividad y sensibilidad deseada, se inicia el escaneo del rango completo de los niveles de energía.
3. El espectro gamma se analiza para buscar la presencia de foto crestas, las cuales no son características de las emisiones de radionúclidos PET. No menos del 99.5% de



las emisiones gamma observadas deben de corresponder a 0.511MeV y 1.022 MeV a crestas dispersas debidos al efecto Compton de los radionúclidos PET.

4.1.5. Pureza química.

La pureza química fue determinada mediante el análisis cromatográfico HPLC de una alícuota del producto final, esto se realiza simultáneamente con las determinaciones de la pureza radioquímica.

En base al mismo sistema que se usa para la pureza radioquímica, una alícuota de la solución del producto final es analizada en la columna analítica con un detector de flujo UV puesto a 252 nm. La pureza de la cresta identificada fue mayor al 90%.

4.1.6. Actividad específica.

Para determinar la actividad específica es realizada de forma simultánea con el análisis de HPLC utilizado para determinar la pureza radioquímica.

Esta se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$SA = \frac{MW \left[C_r \left(\frac{RCP}{100} \right) \right]}{C_p}$$

Dónde:

SA = Actividad Específica

MW = peso molecular del 16 – FES en $\frac{\mu\text{g}}{\mu\text{mol}}$

C_p = es la concentración del 16 – FES presente en el radiofármaco PET en $\frac{\mu\text{g}}{\mu\text{mol}}$

C_r = es la concentración de radiactividad del radiofármaco [^{18}F]FES en $\frac{\text{mCi}}{\text{mL}}$

C_r se obtiene mediante la medición de una alícuota medida en el calibrador de dosis Capintec.

Sin embargo, el método para la construcción y validación de curvas de tres puntos para soluciones estándar de FES es:

1. Utilizar el material de vidrio volumétrico adecuado y una balanza analítica.
2. Preparar una solución de FES en 5% etanol/agua en una concentración de $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
3. Preparar 2 diluciones en serie de esa solución, una de $1 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ y otra de $0.1 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$
4. Utilizando la misma columna de HPLC y el detector UV, para el control de calidad del producto [^{18}F]FES, se realizan 3 inyecciones de cada una de las concentraciones.



Se realiza una curva estándar de las 3 inyecciones por concentración, esto se logra con la respuesta del detector vs concentración $\frac{\text{g}}{\text{mL}}$.

5. Es importante determinar un sólo punto de la concentración, puede ser útil para usarlo en pruebas superiores, y sobre todo porque debe existir una relación de una sola línea, entre la respuesta de la concentración y el detector.

El rango final de la concentración de 10 a 0.1 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, tiene la intención de categorizar la concentración esperada del FES frío en la solución del producto radioquímico final. Sin embargo, muchas veces es ajustada para proveer una identificación adecuada de la concentración de la solución estándar, que puede ser utilizada en las determinaciones de rutina para la actividad específica.

4.1.7. Solventes orgánicos residuales.

Los niveles de los solventes orgánicos residuales en el producto final [^{18}F]FES, dependen de los estándares locales, sin embargo, el método estándar para este análisis es la cromatografía de gases (CG), en una columna de entrada dividida/no dividida y un detector de ionización de flama. La prueba se lleva a cabo durante 5 a 10 minutos.

Tabla. 4.4. Características del equipo utilizado para la prueba de solventes orgánicos residuales.

Equipo	Cantidad	Especificación
Cromatógrafo de gases, con detector de ionización de flama, inyector automático y sistema de recolección de datos.	1	Calificado Columna CG: Columna Restek Stabilwax: Parte #10623-124 Restek Chromatography Products E-mail: United States:support@restek.com International:intltechsupp@restek.com
Columna de cromatografía de gas (USP tipo G16)	1	Restek pn: (10623-124) Instalada y verificada
Solvente estándar	1	Solventes Orgánicos disueltos en agua: específico para la síntesis de FES
Muestra de [^{18}F]FES	1	Lote actual
Auto Inyector de viales	2	Nuevo y limpio



Septa caps divididas para los viales	2	Nuevo y limpio
--------------------------------------	---	----------------

4.1.7.1. Procedimiento para el análisis de solventes orgánicos residuales.

1. Solución de solvente estándar: Se necesita una solución estándar de solventes orgánicos potenciales, presentes en la formulación del producto final [¹⁸F]FES.
2. Solución FES: Se necesita una solución estándar la cual debe incluir acetona (que puede ser utilizada para limpiar el sistema de síntesis) y acetonitrilo en concentraciones finales de 50 a 1000 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$.
3. Las condiciones del Cromatógrafo de Gases son:
 - Perfil de temperatura: Mantener una temperatura de 40°C por 3 minutos, después incrementar la temperatura a 180°C, después mantener a 180°C por 5 minutos.
 - Temperatura de entrada: 180°C
 - Proporción de división: 15.1
 - Velocidad lineal de la columna: 42.7 cm/seg
 - Temperatura FID: 250°C
4. Colocar los viales del inyector automático con 100 μL de agua desionizada (blanco) y mezcla de solvente estándar en la bandeja de automuestreo. Las inyecciones en orden son:
 - Blanco (Agua DI)
 - Estándar (solución que contenga solventes de prueba)
 - Estándar FES
 - Blanco (Agua DI)

Una vez finalizadas las corridas del blanco y el solvente, de igual manera, se calcula el área promedio bajo las crestas estándar del solvente y la desviación relativa estándar (DRS). Esta fue menor a 5%. Es importante mencionar que las corridas del blanco no presentaron crestas significativas.

5. Cuando el producto final [¹⁸F]FES está listo, se administra una muestra de 100 μL en un nuevo vial del inyector automático. (El volumen de inyección para la muestra [¹⁸F]FES, es el mismo que se utiliza para las inyecciones estándar del solvente. Las inyecciones en orden son:
 - Fármaco [¹⁸F]FES.
 - Fármaco [¹⁸F]FES.

Al finalizar las corridas, se calcula el área promedio bajo las crestas estándar del solvente y la desviación relativa estándar (DRS). Esta fue menor al 5%.



Ahora bien, se calcula la concentración del producto final [¹⁸F]FES con la siguiente fórmula.

$$C_p = \frac{(C_{st} * A_{st})}{A_p}$$

Dónde:

C_p = es la concentración de [¹⁸F]FES

A_p = es el área bajo la cresta UV del fármaco [¹⁸F]FES

C_{st} = es la concentración de la solución de referencia estándar de 16 – FES

A_{st} = es el área bajo la cresta de referencia estándar UV de FES

4.1.8. Kryptofix residual.

La cantidad de kryptofix-222 residual en la formulación del producto [¹⁸F]FES, es determinada utilizando una prueba de mancha colorimétrica y la comparación con soluciones estándar de concentración conocida.

Tabla. 4.5. Características del equipo utilizado en la prueba para kryptofix-222 residual

Equipo	Cantidad	Especificación
Agua Milli-Q	500ml	Fresco
Hidrógeno Hexacloroplatinado hexahidrato	0.26g	Acros pn: 363590010
Yoduro de potasio 10%	45ml	Acros pn: 19379-0500
Kryptofix-222	gota	Sigma-Aldrich #29110, as 50 □g/ml en agua
Placas de plástico TLC 20-cm X 20cm	Las necesarias	EMD pn: 57487
Matraz Beaker/Erlenmeyer	3	200mL, 10mL y 50 mL
Papel secante	1	n/a

4.1.8.1. Procedimiento para preparación de reactivos.

A. Preparación de la solución reactivo.

1. Se toman 0.26g de H₂PtCl₆, 6H₂O (Hidrógeno Hexacloroplatinato hexahidrato) y 5 mL de agua milli-Q, y se colocan en un matraz de 10 mL y se disuelven. (SOLUCIÓN A)



2. Se colocan en un matraz Erlenmeyer 5g de KI (Yoduro de Potasio) y 45 mL de agua milli-Q, y en seguida se disuelve. (SOLUCIÓN B)
3. Una vez preparadas las soluciones, en un matraz de Erlenmeyer de 200 mL colocar la SOLUCION A, la SOLUCION B y adicionar 100 mL de agua milli-Q. Cubrir el matraz y etiquetar. (SOLUCIÓN C).

B. Preparación de las placas de prueba.

1. Una vez cortadas las placas de plástico TLC, se sumergen las piezas en la SOLUCION C. durante 12 horas.
2. Al dejarlo reposar, se secan las placas y se cortan en cuadros de 2.5cm cada lado, y se guardan (Temperatura ambiente).

C. Preparación del estándar kryptofix – 222.

1. Con el instrumento de laboratorio adecuado, se prepara una solución estándar que contiene $50 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ de kryptofix – 222 en agua desionizada. Esta se guarda en una botella oscura y se envuelve en papel aluminio.

4.1.8.2. Procedimiento para prueba de mancha del kryptofix – 222.

Tabla. 4.6. Características del equipo utilizado en prueba de mancha del kryptofix-222.

Equipo	Cantidad	Especificación
Tira de prueba	1	Preparada como se ha especificado anteriormente.
Jeringa de 1mL con aguja/ 22-28 gauge	3	Nuevas y estériles
50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ estándar	1	Kryptofix-222 en agua
Agua Estéril	1	Nueva, USP

1. Se saca una tira de prueba.
2. Para aplicar la prueba: Con la jeringa se toma una gota del producto final [^{18}F]FES y, se aplica a la tira de prueba.
3. En la misma tira, se detecta el estándar kryptofix-222 ($50 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$) y un control negativo del agua estéril. Esto permite que la mancha se seque antes de su lectura.
4. Para detectar el kryptofix – 222: Cuando la prueba es positiva, aparece una forma de anillo de color negro azulado alrededor de un círculo blanco de silica, de un anillo rosa de reactivo son reaccionar. Si la concentración del kryptofix – 222 es baja o



hay ausencia de este, un núcleo rosa pálido permanecerá en el centro del círculo blanco sin ningún anillo negro azulado visible.

5. Se observaron estas 3 manchas y enseguida se determina la concentración relativa de kryptofix en el lote de radiofármaco (puede ser menor o mayor a $50 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ para PET).

El resultado de esta prueba marco que el producto final [^{18}F]FES contenía $50 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ de kryptofix-222 .(MOCK, 1997).

4.1.9. Determinación del pH.

Para obtener el pH del producto final [^{18}F]FES es medido mediante la tiras de papel pH. Se toma una gota del producto final [^{18}F]FES, se coloca en el papel pH para conocer el cambio de color del papel de acuerdo a los estándares del indicador.

El pH del producto final debe estar entre 4.6 y 8.5.

Tabla. 4.7. Características del equipo utilizado en la prueba para pH.

EQUIPO	ESPECIFICACIONES
Tiras de prueba de pH	Tiras de prueba Baker-pHix Universal pH 4.5 a 10 en unidades de 0.5 pH

4.1.10. Color y turbiedad.

Se toma una pequeña muestra del producto final [^{18}F]FES para verificar color, turbiedad y precipitaciones.

La solución deber estar clara, incolora, inodora y libre de materia sólida.

4.1.11. Prueba de pirógenos.

De acuerdo a la Farmacopea de México, el procedimiento de la prueba de pirógenos dura aproximadamente 20 minutos y, esta permite determinar que la muestra del producto es apirogénica antes de su liberación.

Esta prueba se lleva a cabo utilizando un equipo a base de pruebas de cartucho comercialmente disponibles.

Tabla. 4.8. Características del equipo utilizado para la prueba de pirógenos.

Equipo	Cantidad	Especificación
Unidad Charles River PTS	1	Buenas condiciones de trabajo
Cartucho de prueba Charles River LAL	1	Nuevo, temperatura



		ambiente, pn: PTS20F
Agua LAL (libre de pirógenos)	4.9mL	Charles River
Macro Pipeta	1	Buenas condiciones de trabajo
Pipeta de punta, estéril, libre de pirógenos de cristal de 10mL	1	Nueva
Tubos de ensayo libres de Pirógenos	1	Nueva
Jeringas y agujas de 1mL	1	Nuevas, estériles
Pipeta de punta Eppendorf	1	Nueva, estéril, 2-200 μ L
Pipeta mecánica de volumen fijo de 25 μ L	1	Nueva

4.1.11.1. Procedimiento para prueba de pirógenos.

A. Almacenamiento de los materiales.

1. Los materiales que se utilizan en las pruebas de endotoxinas para los fármacos de uso en PET, se acumulan de acuerdo a las instrucciones que presente el fabricante original.

B. Procedimiento de la prueba.

1. Se remueve el cartucho de prueba y se inserta en la unidad PTS de acuerdo a las instrucciones que contiene el cartucho.
2. Se verifica que en la pantalla del ordenador muestre el mensaje “Add simple and press enter”
3. Con una micropipeta y una pipeta de punta de vidrio de 10 mL, se introducen 4.9mL de agua LAL en el tubo de prueba libre de pirógenos y enseguida se tapa.
4. Se diluye una muestra del producto final [18 F]FES, donde se agrega 0.1mL de [18 F]FES y 4.9mL de agua LAL. Se tapa y se mezcla la solución con un agitador durante 10 segundos.(SOLUCION A)
5. Con la pipeta de volumen fijo de 25 μ L y la pipeta de punta 2 – 200 μ L se proporcionan 25 μ L de la (SOLUCIÓN A) en cada uno de los pozos del cartucho de prueba.
Inmediatamente se inicia la prueba dando “enter” en el ordenador.
6. Se registran los resultados al término de la prueba

4.1.12. Prueba de esterilidad.

Estas pruebas se llevan a cabo después de la liberación del producto final [18 F]FES y, se deben iniciar dentro de las 24 horas siguientes a que fue liberada la dosis.

Las pruebas de esterilidad se realizan en dos diferentes medios de cultivo y, mediante el uso de controles de crecimiento negativo y positivo, en un gabinete de flujo laminar para crear un ambiente estéril.



Fig. 4.1 Gabinete de flujo laminar, Nuaire Laminar Flow.

Tabla 4.9 Características del equipo utilizado en la prueba de Esterilidad.

Equipo	Cantidad	Especificación
Incubadora	1	20-25°C, temperatura monitoreada Incubadora de Propósitos generales o, equivalente de las siguientes especificaciones: (rango de temperatura 5°C sobre temperatura ambiente a 60 °C, uniformidad +/- 0.25 ° at 37 ° C).
Gabinete de flujo Laminar	1	Certificado
Guantes de oscultación de nitrilo o equivalentes	1 caja	Nuevo, limpio
Desinfectante Bactericida	1 litro	Estéril, vigente
Desinfectante de Esporas	1 litro	Estéril, vigente
Toallitas limpiadoras 4x4	1 paquete	Particularmente bajo
Muestras para ser probadas	n/d	Etiquetadas y almacenadas apropiadamente
Agua Estéril para inyección (SWFI)	20mL	Nueva USP SWFI
	Variable	Nueva, estéril, tubo de 10-20mL, previamente verificado



Líquido tioglicolato como medio de cultivo (FTM)		Fluid thioglycolate growth media (FTM). Becton-Dickinson Catalog #221823.
Medio de cultivo Caldo Tríptico de soya (TSB)	Variable	Nuevo, estéril, tubo 10-20mL, previamente verificado Medio de cultivo Tríptico de soya (TSB) Becton-Dickinson Catálogo #220889.
Placas de agar Tríptico de soya settling/touch	4	Nuevo, estéril, inventario aprobado
Jeringas de 1 o 3 mL	Variable	Nuevo, estéril
agujas	variable	Nuevo, estéril

4.1.12.1. Procedimiento para prueba de esterilidad.

Se toma en cuenta el producto, el número de lote, fecha de síntesis, fecha en que se inició la prueba de esterilidad, número de unidades examinadas, fecha de terminación de la prueba, número de lote del medio de cultivo utilizado y, los resultados finales de las pruebas de esterilidad.

A. Almacenamiento de muestras.

1. Las muestras del producto probado, se almacenan de 2 a 8°C por un período de 24 horas antes de las pruebas de esterilidad y del período de 14 días de incubación de los cultivos de prueba. Se debe tener precaución para evitar que la muestra se congele, porque si esto sucede, reduce el número de bacterias viables y puede generar falsos negativos.

B. Preparación de la campana de flujo laminar (LAF).

1. Se enciende por una hora ininterrumpida antes de usarse.
2. Se desinfecta antes de cada uso, para evitar que se formen microbios formadores de esporas y microbios

C. Monitoreo del medio ambiente.

1. Se colocan las placas de contacto en la campana LAF, estas se tapan con cinta.
2. Se dejan en la incubadora durante 5 ó 7 días para monitorear crecimiento diariamente.



En caso de presentar crecimiento, inmediatamente se hace una acción correctiva si se encuentran más de 3 unidades de formación de colonias, con la ayuda de control de calidad.

D. Preparación de Cultivos de Prueba.

1. Se desinfecta la ampolleta con alcohol.
2. Se etiqueta el crecimiento de los tubos de medio con el número de lote de muestra.
3. Se extrae 1 mL del producto final [^{18}F]FES, se coloca en un tubo TBS positivo y se tapa. En los TBS negativos se le coloca 1 mL de agua desionizada.
4. Cuando todos los cultivos de prueba estén preparados y sellados, se colocan los tubos de cultivo TBS, en una incubadora de 20 a 25°C por 14 días
5. Se inspeccionan visualmente a partir del día 5 los tubos de cultivo, para saber si hay crecimiento (turbiedad)
6. Una vez realizada la prueba, los tubos de cultivo se colocan en un contenedor adecuado con etiquetas de desechos infectocontagiosos, de acuerdo a las reglas y regulaciones del laboratorio.

E. Interpretación de los resultados de las pruebas:

1. Se verifica si las pruebas realizadas en el lote de muestras son consideradas para determinar si cumple los requisitos de esterilidad.
2. Para dar un control de crecimiento positivo debe demostrar un crecimiento abundante (nubosidad, turbiedad) al ser revisada la prueba al día 5 de incubación.
3. Es un control de crecimiento negativo cuando en el día 14 de incubación, no se presentó ningún crecimiento.

F. Acciones a tomar si falla la prueba de esterilidad.

1. Si se presenta un crecimiento microbiano, se lleva a cabo una auditoría de los procedimientos y del área de prueba de esterilidad por parte de control de calidad y se genera un reporte. Si es necesario, se lleva a cabo una prueba más de esterilidad para corregirla

4.1.13. Prueba de estabilidad del producto.

La estabilidad de las formulaciones del [^{18}F]FES en solución salina isotónica que contenga ascorbato de sodio como antioxidante, es examinada previamente. El [^{18}F]FES es reportado estable por 6 horas después de su formulación. La estabilidad del producto final fue determinada por la inyección repetitiva de una alícuota de la formulación final en el sistema analítico HPLC utilizado para determinar la pureza radioquímica.



4.1.13.1. Procedimiento para la prueba de estabilidad.

A. Procedimiento de las pruebas.

1. Se determina el máximo tiempo que se pretendía para el uso del radiofármaco PET.
2. En intervalos regulares de tiempo (cada 2 horas), se determina la pureza radioquímica a través del HPLC analítico bajo las condiciones utilizadas para pruebas de aceptación de pureza radioquímica.
3. Para cada punto en el tiempo se obtuvo una muestra fresca de una alícuota del radiofármaco PET de la ampolla del producto final.
4. La pureza radioquímica fue estable y consistente durante el tiempo en que se pretendía usar. Si la pureza radioquímica hubiera declinado durante las pruebas de estabilidad, se hubiera requerido una investigación para determinar si la descomposición es un resultado de efectos químicos o de radiólisis.

4.1.14. Prueba de integridad del filtro estéril.

La filtración final del producto final [^{18}F]FES es realizado mediante el método de prueba del punto de burbuja.

4.1.14.1. Procedimiento para prueba de integridad del filtro estéril.

1. Se moja el filtro con agua para las membranas hidrofílicas, o una mezcla espontánea de alcohol/agua para membranas hidrofóbicas
2. Se conecta la entrada del filtro a una fuente apropiada de baja presión (una jeringa o una línea de baja presión) y la salida a una sección de tubería que llegue a un vaso de precipitación de agua.
3. Se presuriza el sistema a un 80% del punto de presión esperado de burbuja que está establecido en el manual del fabricante.
4. Se incrementa la presión hasta que se observe un burbujeo en la salida.

4.2. Administración del Producto.

Al terminar la síntesis química del [^{18}F]FES, se tiene como resultado una solución en bruto. Ahora bien, si la distribución del producto a múltiples sitios es indispensable, entonces un método para suministrar la solución del producto a múltiples ampollas estériles unitarias o a jeringas múltiples especificadas a cada paciente, es necesario:

1. Administrar el radiotrazador de forma manual en ampollas o jeringas en condiciones apropiadas y en un ambiente limpio



- Administrar el radiotrazador de forma automática que mantenga una vía para fluido estéril y, que no requiera la instalación de un medio ambiente para lograr establecerlo.

Tabla 4.10 Criterios para la liberación del producto.

Criterio para la Liberación de un Producto	
Prueba de Control de Calidad	Requerimiento
Pre-liberación:	
Apariencia (visual)	Solución clara, incolora, prácticamente libre de partículas
Valor del pH (tira indicadora de pH)	4.5 to 8.5
Identidad Radioquímica del [¹⁸F]FES	¹⁹ F- estándar de referencia de tiempo de retención ± 10%
Pureza Radioquímica del [¹⁸F]FES	>90%
Pureza Química del [¹⁸F]FES	>90%
Actividad Específica del [¹⁸F]FES	>111 GBq/μmol (3000 Ci/mmol)
Identificación del Radionúclido y pureza del marcado [¹⁸F] (Prueba de la Medición de la Radioactividad/vida media)	110 ± 5 min
Concentración de la Radioactividad (Medición de la Radioactividad)	50-1000 MBq/mL (EOS)
Kryptofix[®] 2.2.2.	< 50 μg/mL
Solventes Residuales (GC) (de acuerdo a la USP <467>	Etanol: ≤ 5000 μg/mL Acetonitrilo: ≤ 410 μg/mL acetona: ≤ 5000 μg/mL
Integridad de Filtro (método de contención de la presión o del punto de burbujeo)	Decremento de la Presión ≤ 0.2 bar (≤10%), empezando en ≥ 2.0 bar (1 min) o Presión > 50 psi



Endotoxinas Bacterianas (de acuerdo a la USP <85>, método LAL, sistema de detección automático de endotoxinas Charles River Endosafe-PTS)	≤ 17.5 EU/mL
Post Liberación:	
Pureza del Radionúclido [^{18}F] (γ-espectroscopia)	≥ 99.9 %, realizado trimestralmente
Esterilidad (prueba de crecimiento bacterial 14-días, de acuerdo a la USP <71> vía inoculación directa de un medio de cultivo)	estéril; no detección de microorganismos viables



Capítulo V

“Resultados”



5. Capítulo V “Resultados”

5.1. Presentación de resultados.

En base al procedimiento experimental se logró sintetizar el [^{18}F]FES, ahora bien el reporte de la síntesis química es:

- ❖ **Producto final:** [^{18}F]FES ó 16-alfa- ^{18}F Fluoroestradiol.
- ❖ **Número de lote:** 092111FES.
- ❖ **Fecha de la síntesis química:** 21 de Septiembre del 2011

- Condiciones de irradiación del ciclotrón:

Modelo: Ciclotrón GE Medical System para trazador PET.

Intensidad de corriente: 40 μA por 5 minutos.

Rendimiento inicial: 9.84 GBq.= 9840 MBq

- Síntesis química:

Se realizó con un sistema de síntesis automatizado en un ciclotrón GE Medical System, y haciendo modificaciones al proceso reportado en: Römer F., (1999). **Automated production of [^{18}F]FES for breast cancer imaging.** Nucl. Med. Biol. 26, 473–479.

Esto es:

1. Producción del ión [^{18}F]fluoruro: producido por irradiación mediante un ciclotrón, utilizando agua enriquecida con Oxígeno – 18. (H_2^{18}O).
2. Se prepara una solución de 7 mg K_2CO_3 con 22 mg de kryptofix – 222 en una solución 1:1 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$. y una vez concluida la reacción, esta se seca por evaporación azeotrópica.
El residuo se reconstituyo con CH_3CN seco.
3. Se prepara el precursor con: 2 mg de 3-O-metoximetil-16, 17-0-sulfuril-16-epiestrol en 1 mL de CH_3CN . Una vez preparado el precursor, se calentó en configuración cerrada durante 10 min.
4. El CH_3CN se evapora a 95°C y con un flujo de nitrógeno (N) al vacío.



5. Se toma 1 mL de una solución 0.2 N de HCl en el 90% de H₂O/CH₃CN y de igual manera el CH₃CN se evaporó a 95°C.
6. Se adiciona el HCl y se repitió dos veces la evaporación del CH₃CN.
7. Después de la evaporación del CH₃CN, el residuo se disolvió con una solución al 60% CH₃-CH₂-OH (etanol)/solución salina. Inmediatamente después se inyectó para la preparación de la columna HPLC.
8. Se purifica el producto ([¹⁸F]FES) por HPLC con un eluyente de CH₃-CH₂-OH al 60% en H₂O con NaCl al 0.9%. Se USA un caudal de 1.5 mL/min.
9. El producto se eluye a los 13 minutos, y finalmente se almacena en un vial limpio.
10. Por último el producto final [¹⁸F]FES se diluye en 10 mL de H₂O y se filtró a través de un filtro de 0.22 micras estéril (Millex – GV) en un vial estéril.

Al purificar el producto:

- ❖ **Tiempo ocupado al terminar la síntesis:** 1:55 horas.
- ❖ **Rendimiento de la síntesis:** 939 MBq.

Al filtrar el producto:

- ❖ **Tiempo ocupado al terminar la síntesis:** 2 horas. (se agregaron 5 minutos más al tiempo inicial).
- ❖ **Rendimiento de la síntesis:** 658 MBq.

Por lo tanto el cálculo de rendimiento es:

$$\text{Rendimiento} = \frac{(658\text{MBq})(100\%)}{939\text{MBq}} = 6.686\%$$

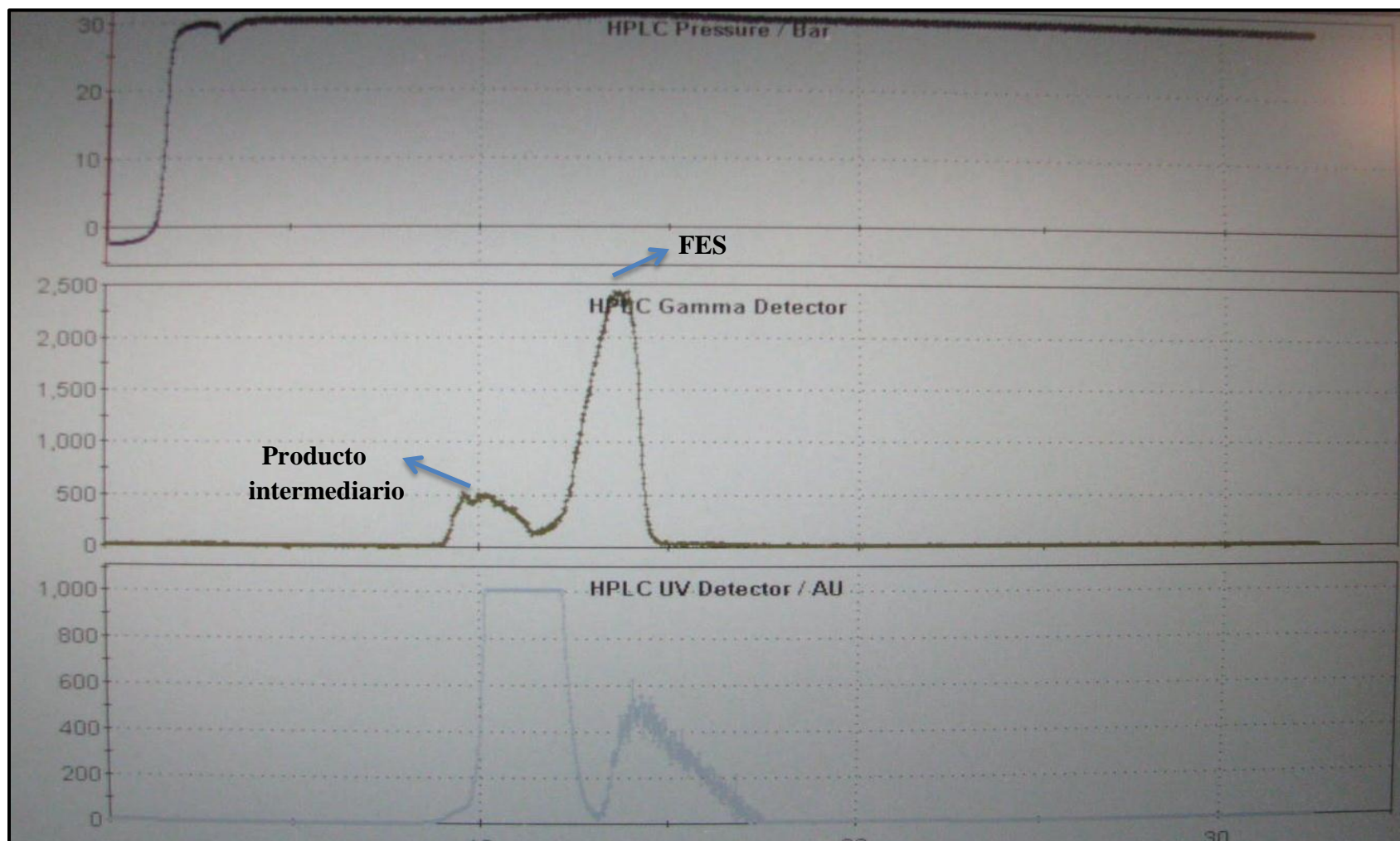


Fig. 5.1 Cromatograma HPLC preparativo.



- Análisis de control de calidad:

- A. Pureza e identidad radioquímica:

1. Se realizó en la columna HPLC C18 – 2 de 250 mm X 4.6 mm.
2. El eluyente se preparó de CH₃CN al 40% en H₂O y se tomó 1 mL de esta solución.
3. Se usa una detección de UV (280 nm).
4. Se hacen las inyecciones antes mencionadas del estándar auténtico ([¹⁸F]FES)

❖ **Tiempo de retención:** 7.8 minutos

Method Name:	C:\Documents and Settings\Administrator\Desktop\Brian\FES\FES QC.met	Page 1 of 1
Data:	C:\Documents and Settings\Administrator\Desktop\Brian\FES\DATA\092111\FES_RCP_stand_001.dat	
User:	System	
Instrument:	Shimadzu LC-2010	
Acquired:	9/21/2011 2:40:36 PM	
Printed:	9/21/2011 4:30:36 PM	
Injection Vol:	5	
Description:	{Data Description}	

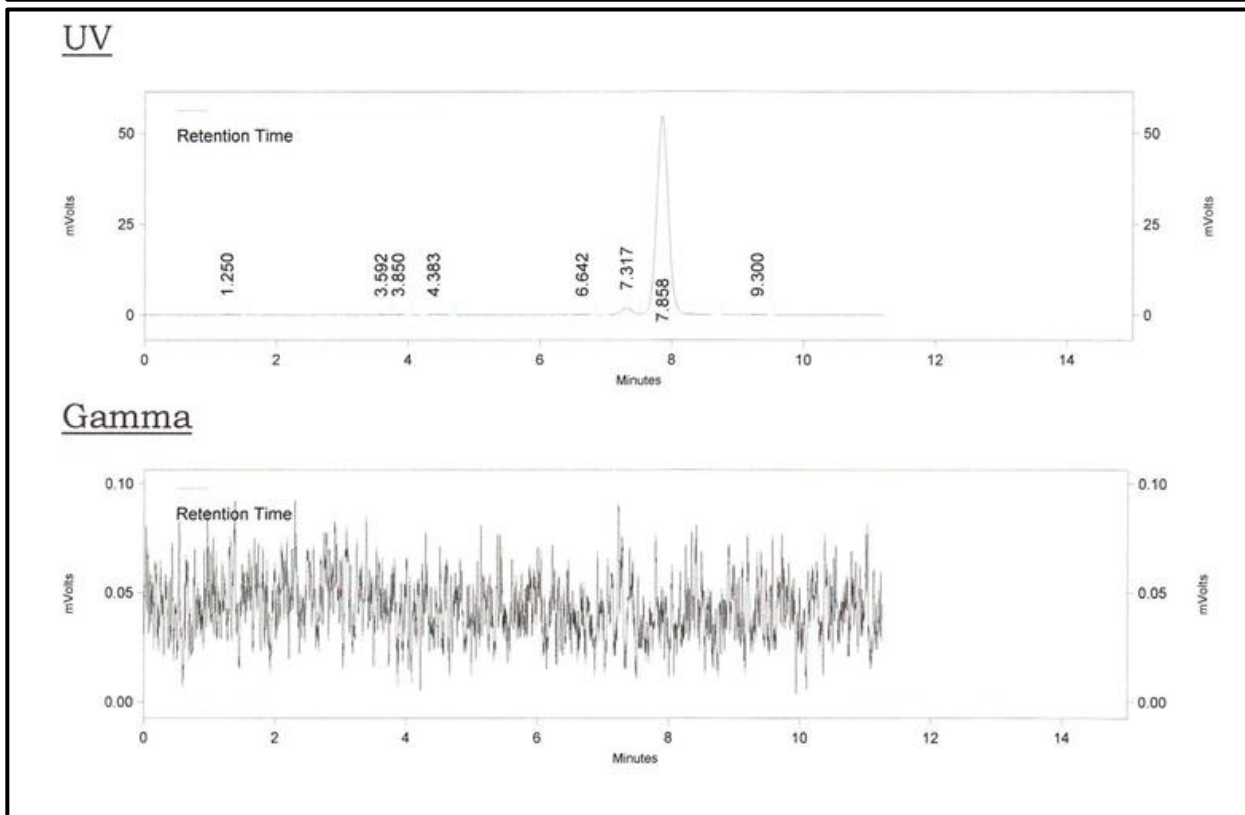


Fig. 5.2 Cromatograma (UV – Gamma) FES Estándar



Donde los resultados son:

Tabla 5.1 Resultados del cromatograma (UV – Gamma) FES Estándar

Detector UV (280 nm)					
Tiempo de retención	Área	%Área	Altura	Anchura	S/N ASTM
1.250	1058	0	141	0.433	4.770
3.592	1023	0	120	0.258	3.340
3.850	1115	0	132	0.325	3.670
4.483	2239	0	209	0.558	5.810
6.642	1218	0	129	0.350	5.290
7.317	23897	3	1930	0.592	79.130
7.858	671177	96	54707	1.242	2242.910
9.300	885	0	76	0.400	3.120



1. Se usa una detección de UV (280 nm).
2. Se hacen las inyecciones antes mencionadas del producto final [^{18}F]FES (alícuota de 100 μL)

❖ **Tiempo de retención:** 7.9 minutos

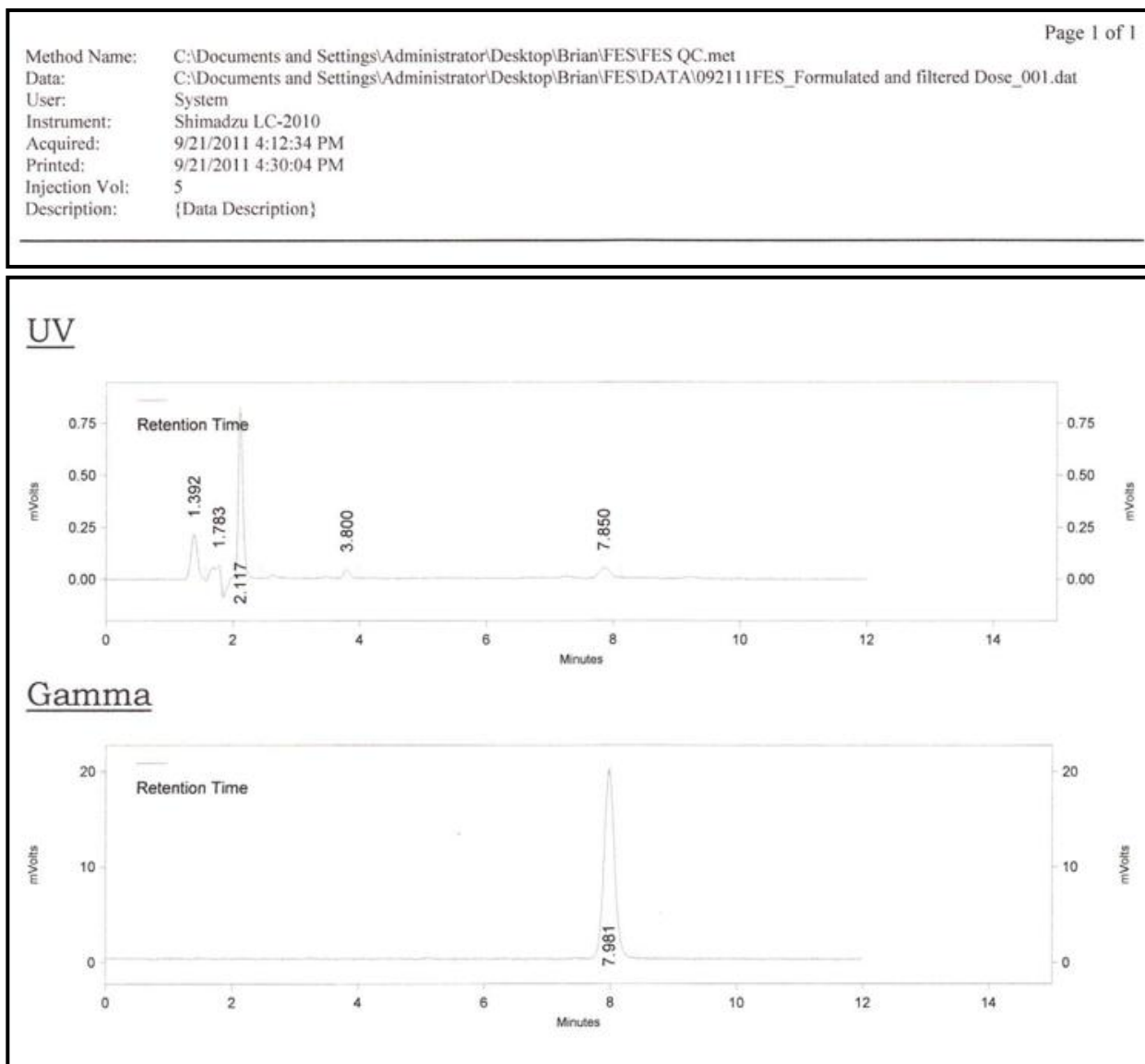


Fig. 5.3 Cromatograma (UV – Gamma) del producto final [^{18}F]FES.



Donde los resultados son:

Tabla 5.2 Resultados del cromatograma (UV – Gamma) del producto final [¹⁸F]FES.

Detector UV (280 nm)					
Tiempo de retención	Área	%Área	Altura	Anchura	S/N ASTM
1.392	2022	21	236	0.342	71.24
1.783	1570	16	143	0.275	43.17
2.117	5436	55	880	0.608	265.65
3.800	280	3	43	0.292	4.78
7.850	510	5	46	0.433	8.09

De acuerdo a los cromatogramas obtenidos, se puede comprobar que presenta una pureza radioquímica y del radionúclido 100%, ya que el [¹⁸F]FES eluye al mismo tiempo que el [¹⁸F]FES estándar. Esto es:

Tabla 5.3 Tiempo de retención del FES Estándar.

Detector UV (280 nm)					
Tiempo de retención	Área	%Área	Altura	Anchura	S/N ASTM
7.858	671177	96	54707	1.242	2242.91

Tabla 5.4 Tiempo de retención del producto final [¹⁸F]FES.

Resultados RAD (280 nm)			
Tiempo de retención	Área	%Área	Anchura
7.981	228849	100	0.73

B. *Pureza química:*

Al obtener el cromatograma, se puede observar que no hay presencia de impurezas químicas significativas en la columna HPLC. Es posible identificar un pequeño pico de absorción de UV que este co-eluye con el producto radiactivo y es probable que represente el contenido fluoroestradiol frío. Este pequeño pico marca un tiempo de 3.8 minutos. Esto es:

Tabla 5.5 Tiempo de retención en prueba de pureza química.

Detector UV (280 nm)					
Tiempo de retención	Área	%Área	Altura	Anchura	S/N ASTM
3.800	280	3	43	0.292	4.78

C. Actividad específica:

Esta se ha estimado a partir de la comparación de la absorbancia UV del pico del producto final [^{18}F]FES, a la absorción UV de la muestra estándar del [^{18}F]FES.

Las estimaciones iniciales indican:

$$SA = 675 \frac{\text{Ci}}{\text{mmol}} \left(24975 \frac{\text{GBq}}{\text{mmol}} \right)$$

D. pH:

El valor de pH fue determinado usando tiras colorimétricas para papel pH y, este marco un valor entre 4.5 y 5.

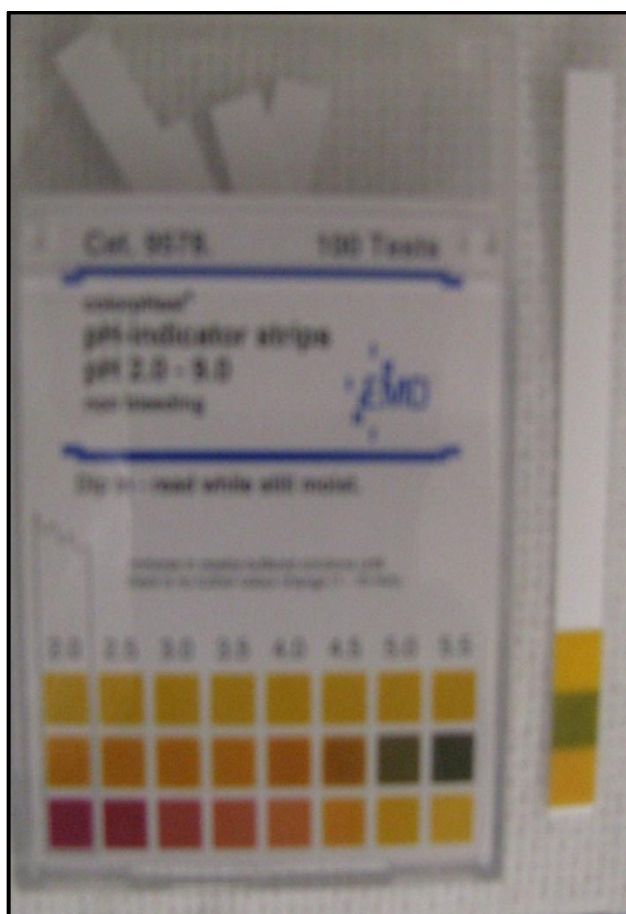


Fig. 5.4 Prueba pH con tiras colorimétricas.



E. Color y turbiedad

El producto final [^{18}F]FES al ser inspeccionado se encuentra limpio, incoloro y libre de partículas de materia.

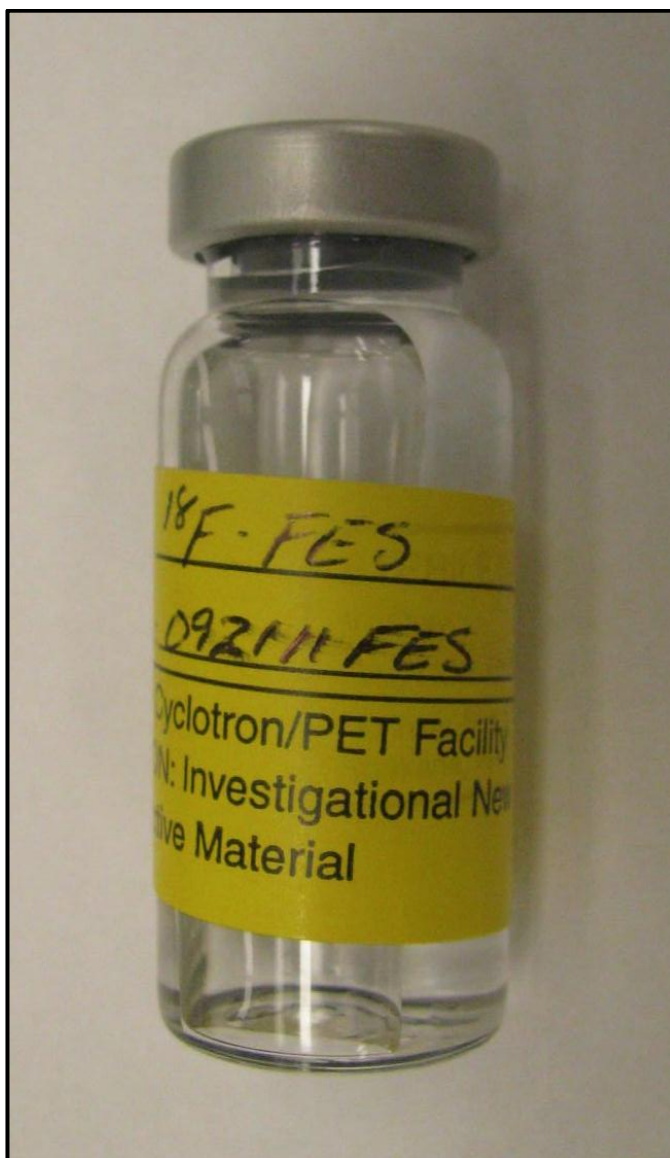


Fig. 5.5 Prueba de color y turbiedad.



F. Prueba de pirógenos.

```
XXXXXXXXXX ENDOSAFE Test Record XXXXXXXXXXXX
V7.12B 12/9/2008
DateTime: ..... 09/21/11 @ 03:49:54PM
Device: ..... 0272
OperatorID: ..... BH
Cartridge: ..... Endotoxin
Temperature: .. Start: 37.00 End: 37.00
Method: ..... KX-122
Cartridge Lot#: ..... 1139148
Cartridge Cal Code: ..... 511036193033
Range: ..... 5-0.05
Range Time: ..... Sec: 110-761
Onset Times: ..... >761 312 >761 294
Slope: -0.420 ..... Intercept: +2.335
Dilution: ..... 40
Sample Lot: ..... 092111FES
Sample ID: ..... FES
Sample Rxn Time CV: ..... 0.0% Pass
Spike Value: ..... 0.398 EU/mL
Spike Rxn Time CV: ..... 4.2% Pass
Spike Recovery: ..... 80% Pass
Test Suitability: ..... Pass
Sample Value: ..... <2.00 EU/mL
:
```

Fig. 5.6 Prueba de pirógeno.

De la figura 5.6 se toman los siguientes datos:

- ❖ Fecha y hora de elaboración: 21 de Septiembre del 2011 a las 3:45:54 PM.
- ❖ Temperatura del proceso: 37 °C.
- ❖ Tiempo de estudio: 20 minutos.



5.2. Análisis de resultados.

Para un mejor análisis se cuenta con la hoja de liberación del producto, esto es:

16 α -[¹⁸ F]Fluoroestradiol (FES)			
Final Product Release Form			
Date:	<u>21 Sept 2011</u>		
Lot Number:	<u>092111 FES</u>		
Test	Criteria	Value	Pass (Y/N)
Radiochemical purity	>90%	<u>100%</u>	<u>Y</u>
Radiochemical identity	Relative retention time (RRT) 0.9-1.1	<u>0.99</u>	<u>Y</u>
Radionuclidic identity	>99% as fluorine-18	<u>110</u>	<u>Y</u>
pH	Half-life 105-115 min	<u>5.0</u>	<u>Y</u>
Specific activity	Between 4.5 and 7.5	<u>24975</u>	<u>Y</u>
Residual solvents	>18500 GBq/mmol	<u>40</u>	<u>Y</u>
	Acetonitrile <410 μ g/ml	<u>50</u>	<u>Y</u>
	Acetone <5000 μ g/ml	<u><20</u>	<u>Y</u>
Kryptofix	<50 micrograms/ml	<u>clear</u>	<u>Y</u>
Color, clarity	clear, colorless solution, no precipitate	<u>colorless</u>	<u>Y</u>
Apyrogenicity	passes pyrogen test	—	<u>Y</u>
Filter bubble point test	>2 bar or >50 psi	—	<u>Y</u>
The following are tests to be performed at specified intervals or post-release of product:			
Sterility*	Sterile: initiated within 24 hours of release	<u>initiated</u>	—
radionuclidic purity	>99% as fluorine-18 performed quarterly	—	<u>Y</u>
*sterility results available following 2-week incubation study			

Fig. 5.6 Hoja de liberación del producto final.



Al traducirlo:

- ❖ Producto final: [^{18}F]FES.
- ❖ Fecha: 21 de Septiembre del 2011
- ❖ Número de Lote: 092111FES

Tabla 5.6 Hoja de liberación del producto final (traducción)

PRUEBA	CRITERIO PARA SER LIBERADO	RESULTADO	¿ES ACEPTADO?
Pureza Radioquímica	Mayor al 90%	100%	SI
Identidad Radioquímica	Tiempo relativo de retención (TRR) 0.9 - 1.1	0.99	SI
Identidad del Radionúclido	Mayor al 99% y el [^{18}F]FES con un tiempo de vida media entre 105 y 115 minutos	110 minutos	SI
Pureza del Radionúclido	Mayor al 99% en el [^{18}F]FES	100%	SI
pH	Entre 4.5 y 7.5	5	SI
Actividad Específica	Mayor a 18500 GBq/mmol	24975	SI
Solventes orgánicos residuales	Acetonitrilo menor a 410 $\mu\text{g/mL}$	40 $\mu\text{g/mL}$	SI
	Acetona menor a 5000 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	SI
Kryptofix residual	Menor a 50 $\mu\text{g/mL}$	30 $\mu\text{g/mL}$	SI
Color y turbiedad	Limpio, solución clara y no mostrar precipitado	Sin color, sin presencia de materia y limpio	SI
Pirógenos			
A continuación, se prueba que se realiza a intervalos especificados o posteriores a la liberación del producto			
Esterilidad	Iniciar 24 horas de la obtención del producto final	DISPONIBLE	SI

Los estudios de esterilidad estuvieron disponibles tras dos semanas de incubación de la muestra.



Capítulo VI

“Conclusiones”



6. Capítulo VI “Conclusiones”

- De acuerdo a las investigaciones realizadas, fue posible conseguir las bases técnicas para llevar a cabo la síntesis del radiotrazador usado en este proyecto de Tesis.
- Se logró identificar las bases generales para desarrollar la síntesis del radiotrazador más utilizado en la detección del cáncer de mamá.
- Se logró comparar las técnicas utilizadas en México para detectar el cáncer de mama, así como marcar que la tecnología PET en imagenología, detecta este mal con mayor precisión y podría ofrecer un tratamiento oportuno a la población que presente tumores mamarios y, mejorar la calidad de vida de la población mexicana en la actualidad.
- Se logró identificar de forma general, diferentes tipos de radiotrazadores para la detección del cáncer de mamá en seres humanos, así como sus propiedades, usos clínicos y tratamientos realizados en México.
- Se consiguió sintetizar el radiotrazador $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ de manera adecuada y con el tiempo necesario para realizar pruebas de purificación al instante y procurar reportar una mejor evaluación
- De acuerdo a la literatura, el tiempo de vida media del $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ estándar (7.5 – 8.0 minutos) y el tiempo de vida media obtenido con el $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ usado (7.9 minutos), permite utilizarlo para próximos eventos clínicos ya que se encuentra en el rango permitido).
- A partir de los resultados reportados en la hoja de liberación del producto final, sería posible dar de alta el radiofármaco para uso clínico. No sin antes hacer ensayos clínicos en animales de laboratorio y después introducirlo en el mercado para y por el consumo humano.
- El lote obtenido, cumple con las especificaciones y/o requerimientos definidos por las sugerencias que se dan en este proyecto de tesis, basados en la Farmacopea de México.
- Se realizó satisfactoriamente la investigación química del radiotrazador a partir de los estudios de imagen de PET en cáncer de mamá y otros, donde consume el uso adecuado del $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ para dicho estudio.
- La evidencia del reporte de la síntesis y las pruebas de purificación realizadas al $[^{18}\text{F}]\text{FES}$, conseguirían su uso dentro y fuera del mercado Nacional, ya sea para uso a nivel laboratorio o a nivel industrial. Ya que es una sugerencia de trabajo para la industria farmacéutica, clínica y química que puede prometer un cambio en el país y en el mundo si es realizado a grandes escalas.

ANEXO “A”

“Especificaciones Técnicas de los Equipos”

1. Ciclotrón Eclipse HP:

- Es un acelerador de iones negativos, compacto y automatizado.
- Esta perfeccionado para la producción y distribución de radionúclidos emisores de positrones.
- Emplea un haz de protones de iones negativos 11 MeV para la producción de isótopos emisores de positrones.
- Esta optimizado para el entorno clínico.
- Su configuración ofrece una línea de haz sencilla equipada con un cambiador de objetivo de 4 posiciones.

El sistema incluye:

- Un carrusel laminado de 3 posiciones para la extracción del haz.
- Todo el sistema de alimentación
- Hardware para el control necesario para el funcionamiento normal.
- Dos ordenadores para el control automatizado del ciclotrón. Esta distribución permite simultáneamente el control del ciclotrón y algunas funciones químicas.
- Un permutador térmico de recirculación basado en agua que, proporciona una refrigeración para todos los sistemas integrados. El haz de protones no entra en contacto con el agua de refrigeración, ni esta se vuelve radiactiva mientras se usa.
- Un software de control para el soporte de objetivo
- Una sección con botellas de gas que es suficiente para albergar todos los gases necesarios para el funcionamiento del sistema.
- Los reguladores se proporcionan para aire. (N_2 , Ar, He y H_2).



Fig. A1. Ciclotrón Eclipse HP



Tabla A₁ .Características generales del Ciclotrón Eclipse HP

Rendimiento típico del sistema	
Energía	11 MeV
Imán	4-sector azimuthallu de campo variable, tira de una sola bobina <ul style="list-style-type: none"> • Energía 3 kW • Media del campo: 1.2 Tesla • Campo magnético en el cuarto menor a 1 gauss
Sistema RF	<ul style="list-style-type: none"> • Modo fundamental 72 MHz • Amplificación máxima de poder 10 kW
Fuente de iones, medidor de iones	<ul style="list-style-type: none"> • Max. H-corriente: 2 mA
Haz de extracción con láminas de carbón	<ul style="list-style-type: none"> • Numero de láminas/carrusel=3 • Tiempo de vida media de la lámina= 10000 μA-hr • Tamaño del haz = 10 mm (HP)
Vacío (torr)	<ul style="list-style-type: none"> • Presión base (mmHg) 5×10^{-7} • Presión de operación $< 1 \times 10^{-5}$
Consumo de energía	<ul style="list-style-type: none"> • En espera <7kW • Operando 35 kW
Enfriamiento (rechazo de calor)	<ul style="list-style-type: none"> • Aire 52000 BTU/hr • Agua 90000 BTU/hr
Blindaje	<ul style="list-style-type: none"> • HP 2.0 mR / hr (20μSv/hr) total de n + g @ 2x60 mA en el límite habitación
Características de funcionamiento	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura de almacenamiento: hasta 70 ° F (21 ° C) • Humedad de funcionamiento: 40-55% sin condensación R.H. • Banda de Control: ± 1 ° C (3 ° F)
Requerimientos eléctricos y de energía	<ul style="list-style-type: none"> • EE.UU. / Asia: 208 ($\pm 5\%$) VAC, 150A, 3-Fases 60 Hz estándar (50 Hz opcional), 380 ($\pm 5\%$) VAC, 150A, 3-Fases 60Hz (opcional) • Europa: 208 ($\pm 5\%$) VAC, 150A, 3-Fases estándar de 50 Hz



Certificaciones	<ul style="list-style-type: none">• ISO 9001 e ISO 13485 de BSI (British Standards Institute)
Dimensiones Ciclotrón	
Ancho	59 in (150 cm)
Profundidad	59 in (150 cm)
Altura	68 in (163 cm)
Peso	22 000 lbs (10 000 Kg)
Protección móvil	
Ancho	95 in (240 cm)
Profundidad	73 in (184 cm)
Altura	90 in (230 cm)
Peso	14 450 lbs (31 800 Kg)

2. Módulo de síntesis química, Explora GN.

- Este módulo de síntesis aprovecha las tecnologías probadas e incorpora la flexibilidad de la síntesis consecutiva de varios marcadores biológicos PET.
- Ofrece un software flexible de desarrollo que, permite que el usuario final disponga de un método sencillo de desarrollo del proceso, siendo posible la estimulación de las reacciones estándares de síntesis química.
- Es compatible con la mayor parte de los disolventes nucleofílicos.

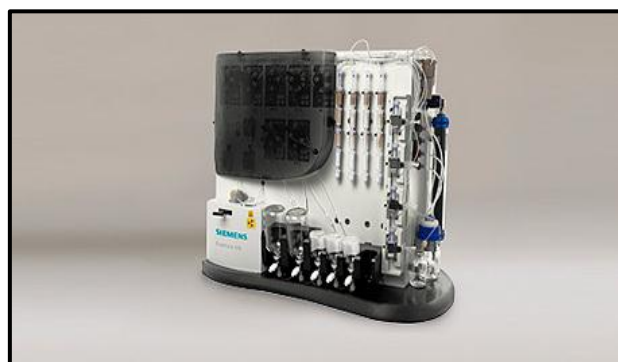


Fig. A₂. Módulo de síntesis general para reacciones nucleofílicas Explora GN

Tabla A₂ .Características generales del Módulo de Síntesis Explora GN

Rendimiento típico del sistema	
Tiempo de síntesis	20 a 120 minutos (depende del trazador y el método)
Dos corridas sin intervención	



Set-up (tiempo)	Típicamente ≤ 20 minutos
Tiempo de limpieza	≤ 35 minutos
Rendimiento de síntesis (decaimiento corregido EOB)	Depende del trazador y el método
Tiempo de producción entre corridas	≤ 35 minutos
Tiempo de acondicionamiento	N/A
Rango de temperatura del reactor	15°C a 165 °C
Rango de presión del reactor	0 a 2 Bar
Características de operación	
Temperatura de operación	41°F (5°C) a 104°F (40°C)
Temperatura de almacenamiento	-40°F (-40°C) a 140°F (60°C)
Humedad de operación	20-85% RH sin condensación
Humedad de almacenamiento	5-85% RH sin condensado
Sistema eléctrico	105-120 VAC; 50-60 Hz
Certificaciones de calidad	
Manufactura basada en ISO 9001:2000 e ISO 13485:2003 certificación en proceso	
Dimensiones	
Ancho	23 in (59 cm)
Profundidad	14 in (35 cm)
Altura	7 in (19 cm)
Peso	22 lbs (10 Kg)
Opciones y accesorios	
Hardware	Explora GN + LC Módulo químico

3. Equipo de purificación. Módulo Explora LC.

- Es un módulo de semi - preparación de HPLC, que se puede utilizar como una unidad de separación general en la instalación radioquímica.
- Se suministra con un manejo de disolventes:
 - 2 columnas C – 18 de semi – preparación.
 - 1 válvula para la activación de columnas.
 - 1 desgasificador de disolventes.
 - 1 válvula de recopilación de fracción.
 - 1 detector de radiación.
 - 1 detector de UV.
 - Software de control.



Fig. A3. Módulo de purificación HPLC de semi – preparación Explora LC.

Tabla A3 .Características generales del módulo de purificación HPLC.

Rendimiento típico del sistema			
Tiempo de purificación		Depende del trazador y el método	
Dos corridas sin intervención			
Set-up (tiempo)		Típicamente ≤ 20 minutos	
Tiempo de acondicionamiento		Típicamente 60 minutos (depende del método)	
Rendimiento de síntesis		N/A	
Tiempo de producción entre corridas		≤ 30 minutos	
Rango de control de temperatura		N/A	
Características de operación			
Temperatura de operación		68°F (18°C) a 95°F (38°C)	
Temperatura de almacenamiento		-65°F (-18°C) a 95°F (35°C)	
Humedad de operación		20-85% RH sin condensación	
Humedad de almacenamiento		5-85% RH sin condensado	
Sistema eléctrico		105-120 VAC; 50-60 Hz	
Certificaciones de calidad			
Manufactura basada en ISO 9001:2000 e ISO 13485:2003 certificación en proceso			
Dimensiones			
Módulo de separación		Módulo de soporte	
Ancho	23 in (59 cm)	Ancho	16 in (41 cm)
Profundidad	14 in (35 cm)	Profundidad	23 in (59 cm)
Altura	7 in (19 cm)	Altura	19 in (48 cm)
Peso	22 lbs (10 Kg)	Peso	35 lbs (16 kg)
Opciones y accesorios			
Hardware		Explora GN Explora FM Explora CH ₃	



4. Equipo de dispensación de dosis.

- Celdas de síntesis:
 - Tienen la función de minimizar la radiación a la cual se encuentra expuesto es operador durante el proceso de síntesis.
 - Proporcionan una atmósfera con condiciones de aire limpio
 - Incluye una cámara de presión interna negativa. (Modelo DSC – 75).
 - Un filtro HEPA construido para la entrada de aire para asegurar que la atmósfera de trabajo interno se encuentra en buenas condiciones de limpieza, además de que también ofrece una cámara de presión interna negativa.
 - Un filtro de carbón construido para filtración del aire de escape
 - La parte frontal está diseñada con un espesor de 75 mm
 - CCD con monitor interno para la operación
 - El monitor detecta el nivel de la radiación interna y permite que se habrá solo cuando el nivel de radiación
- Dispensador de celda caliente:
 - Está diseñado para materiales altamente radiactivos.
 - Permite que el operador realice de forma fácil y cómoda el proceso de dispensación.
 - Ventilación en posición vertical con flujo laminar para ventilación con filtros HEPA para asegurar que la atmosfera de trabajo interno al 100%.
 - Cuenta con un blindaje frontal que tiene un espesor de 60 mm, los costados y la parte trasera cuentan con un espesor de 50 mm.
 - Una ventana de vidrio, cuyas dimensiones son: ancho 250 mm y alto 200mm con blindaje equivalente a 50 mm de espesor, integrado por una puerta delantera.
 - Dos agujeros en la parte frontal de la puerta para un fácil acceso al área de trabajo con un soporte adicional para el manejo de los materiales radiactivos.
 - Un elevador eléctrico con pedal, para subir y bajar los productos de manera eficiente.
 - Un monitor para detectar el nivel de radiación interna que se entrelaza con la puerta de entrada para asegurar que la apertura se habrá sólo por debajo del umbral de radiación presente.



ANEXO “B”

“Métodos generales de análisis basados en la Farmacopea de México.”

En 1965 inició la radiofarmacia en México y, esta se ocupa de diseñar, preparar, dispensar y analizar por medio de un control de calidad los radiofármacos.

Con el apoyo del “Programa de Acuerdos Regionales Cooperativos para la promoción de la Ciencia y la Tecnología Nuclear en América Latina” (ARCL), patrocinado por el Organismo Internacional de Energía Atómica a través de su proyecto “Producción y Control de Radiofármacos” la Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos junto con un grupo de expertos en radiofarmacia, se han dado la tarea de elaborar buenas prácticas de manufactura y control de calidad.

Los radiofármacos son un medicamento especial que contiene un radionúclido y son utilizados en la medicina nuclear para el diagnóstico y tratamiento de algunas enfermedades por lo cual requiere de un manejo especial antes de ser administrados en pacientes y normalmente se preparan en el momento de ser usados.

- Generalidades.

La manipulación y el ensayo de radiofármacos exigen técnicas especiales para obtener resultados correctos y reducir al mínimo los riesgos para el personal. Los medios de obtención, uso y conservación de radiofármacos están generalmente sujetos a licencias concedidas por las autoridades sanitarias. Además, todo productor o usuario debe conocer perfectamente los requisitos nacionales relativos a los productos con los que se trabajan.

- Obtención y manipulación de los radiofármacos.

Para la obtención, uso y conservación de radiofármacos son generalmente sujetos a licencias concedidas por las autoridades sanitarias, ya que, a menudo tienen que ajustarse a dos tipos de reglamentos:

1. Los recomendados para las preparaciones farmacéuticas.
2. Los destinados a las sustancias radiactivas.

Todo producto o usuario debe conocer perfectamente los requisitos nacionales relativos a los productos de que se trate

- ❖ Vehículo o acarreador:

La masa del elemento radiactivo que habitualmente se encuentre en las preparaciones farmacéuticas radiactivas, suele ser demasiado pequeña para ser medida por los métodos físicos o químicos ordinarios.



Las cantidades tan pequeñas no suelen someterse a los métodos comunes de separación y purificación, se pueden añadir durante las operaciones de preparación y distribución un vehículo en forma de sustancia inactiva (isótopo o no del radionúclido pero químicamente análoga a éste), lo que permitirá una manipulación más fácil.

❖ Detección y medida:

Las transformaciones radiactivas pueden contener una emisión de partículas cargadas, un proceso de captura de electrones o un proceso de transición isomérica.

Las partículas cargadas emitidas por el núcleo pueden ser partículas α (núcleos de He de número másico 4) o partículas β (electrones con carga negativa o positiva, β^- o β^+ respectivamente, conocidos como negatrones y positrones)

La emisión por el núcleo de partículas cargadas puede acompañarse de rayos γ cuya naturaleza física es la misma de los rayos X. También emiten rayos γ en el proceso de transición isomérica. Un positrón queda aniquilado con el electrón. La reacción de aniquilación va acompañada de la emisión de fotones γ , cada uno con una energía de 0.511 MeV.

La radiactividad depende de la naturaleza y la energía de la radiación emitida ya que puede ser detectada o medida mediante diferentes instrumentos cuyo funcionamiento se basa en la ionización de gases y sólidos por las radiaciones, en la fluorescencia de ciertos sólidos y líquidos o en los efectos de las radiaciones sobre una emulsión fotográfica.

La magnitud de la radiación típica es más o menos igual a la raíz cuadrada del número de cuentas por lo menos para obtener una desviación típica del 1%.

❖ Absorción:

La radiación ionizante es absorbida por el material que rodea a la fuente radiactiva. Tal absorción se produce en el aire, en la propia muestra (autoabsorción) y en los recipientes que la contienen, en la ventana del aparato de detección y en todo absorbente especial colocado entre la muestra y el detector

El coeficiente de absorción (μ) es el valor recíproco del espesor expresado en mg/cm^2 o el semiespesor (es que ha de tener el absorbente para que la radiactividad sea reducida en un factor de dos) se utiliza habitualmente para caracterizar la radiación β emitida por un radionúclido.



- Obtención y manipulación de los radiofármacos.

Los radiofármacos no tienen acción farmacológica, pero su administración en humanos hace imperativo que se cumplan los requisitos exigidos a los productos farmacéuticos convencionales, además de los específicos por tratarse de sustancias radiactivas.

Luego de la preparación de un radiofármaco y previo a su utilización en pacientes, es necesario verificar la calidad del mismo, para lo cual deben ser sometidos a una serie de controles.

- ❖ Inspección visual:

La apariencia física de un radiofármaco es importante tanto en el momento de la recepción del producto como antes de ser administrado. El profesional radiofarmacéutico deberá estar familiarizado con el color y estado físico de los diferentes radiofármacos. Así en una solución verdadera no deben detectarse partículas visibles a la observación a simple vista o por medio de iluminación con lámpara de tungsteno, sobre fondo blanco y negro. Se recomienda efectuar la observación directa del producto marcado interponiendo un vidrio plomado o indirectamente a través de un espejo.

Cualquier desviación de color y claridad de una solución debe ser analizada exhaustivamente, ya que puede reflejar cambios en el radiofármaco que podrían eventualmente alterar su comportamiento biológico.

- ❖ Tamaño y número de partículas:

Las suspensiones coloidales o preparaciones de agregados deben poseer un determinado tamaño de partículas de acuerdo al órgano que se desea estudiar.

El tamaño de las partículas coloidales se determina por filtración a través de membranas de diferentes diámetros de porosidad, se calcula el porcentaje de la radiactividad retenida por cada filtro. Este método no se aconseja para partículas menores de $0.05\mu\text{m}$.

El control del número y tamaño de los macro agregados y macro esferas se efectúa en un microscopio óptico con un ocular micrométrico calibrado y una cámara de Neubauer o cámara cuenta glóbulos. Para ello, se coloca una muestra del producto en la cámara y el número de partículas se cuentan en cinco cuadrados del área reticulada central (1 cuadrado del centro y 4 de las esquinas de la cámara), formados cada uno por 16 cuadrados pequeños, lo que en total da 80 cuadrados pequeños. Se deberá tener especial cuidado en la toma de muestra a fin de que sea representativa.

Los cuadrados son de 0,02 cm por lado y 0,01 cm de profundidad. El volumen total de la muestra es igual a 0,000004 mL. El número total de partículas por mililitro se obtiene a través de la fórmula:



$$\text{No de } \frac{\text{células}}{\text{mL}} = \frac{A \times B}{0,000004 \frac{\text{mL}}{C}}$$

Donde:

A = Número total de células.

B = Factor de dilución.

C = Cuadrado por número de cuadrados contados.

Además de la cámara de Neubauer, existen las cámaras de Nageotte y de Thomas con divisiones distintas a las explicadas, que tienen indicado el volumen correspondiente a cada cuadrado pequeño, el que en general es de $1/4\ 000\ \text{mm}^3$.

❖ pH:

Todos los radiofármacos deben poseer una concentración apropiada de iones hidrógeno, para su estabilidad e integridad. El pH ideal de un radiofármaco para su administración endovenosa debe ser alrededor de 7,4 (pH de la sangre), aunque puede variar de 2 a 9, debido a la alta capacidad reguladora de la sangre. Esto no es válido para la vía de administración intratecal.

El pH de una solución es universalmente medido con un electrodo de vidrio y pHmetro. En el caso de radiofármacos preparados a nivel Radiofarmacia Hospitalaria, la evaluación colorimétrica con papel pH, es el método de elección.

❖ Determinación de la pureza radionucleídica:

El método más utilizado para examinar la pureza radionucleídica en los emisores gamma es la espectrometría gamma. Sin embargo, no es totalmente seguro porque:

- a) En general no llegan a detectarse las impurezas emisoras de partículas beta.
- b) Cuando se emplean detectores de yoduro sódico, los picos originados por las impurezas pueden quedar enmascarados por los del radionucleido principal o, en otras palabras, resulta insuficiente el poder de resolución del aparato; este problema se puede evitar con el empleo de detectores semiconductores sólidos, de gran poder de resolución, por ejemplo, los de germanio-litio (Ge:Li).
- c) Si el instrumento no ha sido ajustado con una fuente normal de pureza radionucleídica conocida y en condiciones idénticas de geometría, es difícil determinar si los picos adicionales se deben a impurezas o si resultan de ciertos efectos secundarios como retrodispersión, suma de coincidencias o rayos X fluorescentes.

El alcance de la espectrometría gamma puede ampliarse de dos maneras:



1. Observando los cambios que se producen en el espectro de una preparación a medida que pasa el tiempo, método especialmente útil para detectar impurezas de larga vida, en una preparación de radionucleidos de vida corta.
2. Mediante separaciones químicas, con lo cual se separa el radionucleido principal y pueden investigarse las impurezas en el residuo, o se separan químicamente estas impurezas y se valoran cuantitativamente. Evidentemente, por esos procedimientos químicos no pueden separarse impurezas que sean isótopos del radionucleido principal.

La presencia de impurezas radionucleídicas puede causar error de dosificación, incremento de radiación absorbida y/o error diagnóstico.

❖ Normas de pureza radionucleídica:

Las normas de pureza radionucleídica se expresan de dos maneras:

1. Por el establecimiento de un nivel mínimo de pureza radionucleídica. Si no se especifica otra cosa en la monografía de que se trate, el espectro de rayos gamma, determinado por una simple espectrometría gamma empleando detector de yoduro sódico, no deberá ser muy distinto del correspondiente a una solución normalizada del radionucleido antes de que llegue la fecha límite. Como antes se ha indicado, es difícil establecer normas más precisas para el nivel mínimo de pureza radionucleídica.
2. Por fijación de los niveles máximos de las impurezas radionucleídicas en las monografías particulares. En general, tales impurezas son las que suelen aparecer comúnmente durante la preparación del producto.

Evidentemente, por necesarias que estas normas sean, no bastan por sí mismas para asegurar que la pureza radionucleídica de una preparación es suficiente para su empleo humano. Al fabricante le queda el deber de examinar detalladamente sus productos, en especial las preparaciones de radionucleidos de vida corta y de investigar en ellos las impurezas de vida larga, después de un adecuado periodo de desintegración. De este modo el fabricante puede cerciorarse de que los procedimientos de preparación empleados han conducido a la obtención de productos de pureza suficiente.

En particular, la composición radionucleídica de ciertas preparaciones depende de la composición química e isotópica de la sustancia blanco bombardeada por los neutrones y será conveniente obtener preparaciones de ensayo cuando se empleen nuevos lotes de sustancia-blanco.



❖ **Determinación de la pureza radioquímica:**

La pureza radioquímica puede estudiarse mediante diversas técnicas, pero tienen particular importancia la cromatografía en papel, la cromatografía en capa delgada y la cromatografía de líquidos de alta resolución. Después de determinar la separación, se determina la distribución de la radiactividad en el cromatograma. El peso de la sustancia utilizada en el cromatograma suele ser extraordinariamente pequeño (debido a la gran sensibilidad de las técnicas de detección radiactiva) y, en consecuencia, hay que extremar el cuidado en la interpretación de los resultados por la posibilidad de que aparezcan impurezas. Para la separación puede utilizarse también la electroforesis MGA 0311, en vez de la cromatografía. Como ya se ha indicado antes, algunas veces es útil añadir acarreadores (esto es, los compuestos correspondientes no radiactivos), tanto para el propio radiofármaco como para las presuntas impurezas. Sin embargo existe el peligro de que el vehículo inactivo del radiofármaco, una vez añadido, pueda interactuar con las impurezas radioquímicas y dé lugar a una subestimación de esas impurezas. Otra técnica útil se basa en la vigilancia de la distribución biológica del radiofármaco, inyectado en animales de laboratorio apropiados.

❖ **Determinación de la actividad:**

El análisis se realiza usando equipos de detección seleccionados en base al tipo y energía de la radiación emitida siendo práctica común en radiofarmacia hospitalaria el empleo de un calibrador de dosis o activímetro. Por ser un resultado variable en función del tiempo, la radiactividad de un radiofármaco debe referirse a la fecha y hora de la determinación.

La radiactividad de un radiofármaco a ser administrado a un paciente, representa la dosis. Su cálculo será dependiente del radiofármaco, propósito del estudio, característica del paciente y otros.

Para especificar el radionucleido a que se refiere, es común y necesario expresar el tiempo (fecha y hora) en esta forma, por ejemplo: “37 MBq de yodo-131 por miligramo (37 MBq/mg) de meta-yodobencilguanidina el día 1 de enero de 2004 a las 12:00 h”.

No suele determinarse directamente la radiactividad específica; más bien se calcula a partir de la concentración radiactiva de la solución, que es conocida, y de la concentración química del elemento o del compuesto, aunque siempre debe tomarse en cuenta la pureza radioquímica de la preparación.



Tabla B₁. Actividades recomendadas para estudios con radiofármacos de positrones.

RADIONUCLIDO	ACTIVIDAD MBq
¹⁸ F	185-370 (5-10 mCi)
¹³ N	185-370 (5-10 mCi)
¹⁵ C	185-370 (5-10 mCi)
¹¹ C	185-370 (5-10 mCi)

❖ **Determinación de la pureza química:**

La pureza radioquímica de un radiofármaco es la fracción de masa total presente en una forma química deseada. Las impurezas químicas pueden ser introducidas inadvertidamente en el radiofármaco, antes, durante y después de la marcación, como por ejemplo las impurezas de los reactivos, productos de descomposición no radiactivos, rotura de la estructura química del producto entre otros.

Fundamentalmente importan las impurezas que puedan alterar el comportamiento fisicoquímico y/o biológico del radiofármaco o producir efectos tóxicos en el paciente.

La determinación de las impurezas químicas se determina por colorimetría, ensayos a la gota o análisis por activación.

❖ **Pruebas de esterilidad y pirógenos:**

Algunas monografías de radiofármacos precisan que el producto debe ser estéril y estar exento de pirógenos. La semivida de los productos farmacéuticos radiactivos es tal, que ordinario, antes de poner el producto en circulación solo se pueden practicar las pruebas de pirógenos. En general las pruebas de esterilidad han de completarse retrospectivamente.

❖ **Esterilidad:**

La verificación de esterilidad se efectúa por incubación de una muestra en medios de cultivo que sean capaces de ofrecer condiciones ideales para la multiplicación de los más diversos microorganismos.

Los medios de cultivo utilizados son: medio fluido de tioglicolato que permite el crecimiento de aerobios y anaerobios a una temperatura de incubación de 30-35°C por 7-14 días y medio digerido de soya y caseína para microorganismos aerobios, a temperatura ambiente por 7-14 días. Se siembra como mínimo, un volumen de muestra igual o mayor a la dosis a administrar. Para asegurar la esterilidad de un radiofármaco es necesario aplicar las buenas practicas Radiofarmacéuticas, que incluyen la utilización de técnicas asépticas para la producción, control de calidad y fraccionamiento de dosis, flujo laminar, limpieza y saneamiento de áreas, especialmente cuando se trate de células antológicas.



❖ Pirógenos:

Pirógenos son ciertas proteínas y polisacáridos producto del metabolismo de los microorganismos de 0,05 a 1 μm de tamaño. En su gran mayoría son endotoxinas, producto del metabolismo bacteriano, también existen ciertos compuestos químicos que pueden actuar como sustancias hipertermizantes, generalmente solubles y termoestables. Por ello, esterilidad no garantiza apirogenicidad.

La fuente más común de pirógenos es el agua, los productos químicos y el material de vidrio, por lo que se recomienda el uso de soluciones estériles recientemente preparadas, reactivos de alta pureza, material despirogenizado y una correcta metodología del trabajo.

La presencia de pirógenos produce diversos síntomas como fiebre, malestar, leucopenia, dolor en las articulaciones, dolor de cabeza, rubor, dilatación de las pupilas y transpiración. Las reacciones pirogénicas se manifiestan en el paciente entre los 30 min y las 2 h después de su administración.

Todas las sustancias usadas en la preparación de radiofármacos deben de manejarse de manera que se asegure la ausencia de pirógenos. Cuando hay especiales peligros en algunas monografías se especifican ensayos de pirógenos MGA 0711.

Los métodos usuales para la detección de pirógenos son el método in vivo usando conejos y el método in vitro usando lisado de Amebocitos de *Limulus Polyphemus* (L.A.L), oficialmente conocido como prueba de endotoxinas bacteriana.

El método in vivo, se basa en la respuesta febril en el animal causado por pirógenos después de las 3 horas de la inyección del material.

El método in vitro, es un método rápido, sensible y un medio específico para detectar y medir presencia de endotoxina bacteriana en presencia de endotoxina bacteriana provenientes de bacterias gramnegativas. Este método se fundamenta en la gelificación del lisado de amebocitos del líquido circulante de un arácnido el *Limulus Polyphemus* (L.A.L) en presencia de pequeñas cantidades de endotoxina bacteriana.

El gel formado es una estructura delicada y puede ser deshecha irreversiblemente si los tubos son agitados o movidos durante el periodo de incubación. La formación de un gel firme capaz de mantener su integridad cuando el tubo es invertido a 180° indica una respuesta positiva para la presencia de endotoxina.



El ensayo negativo se caracteriza por la ausencia de gel o por la formación de una masa viscosa que no se adhiere al fondo del tubo cuando es invertido.

La sensibilidad del método se expresa en unidades de endotoxina (UE). El límite de endotoxina aceptado para administración parenteral (excepto para intratecal) es de 5 UE/Kg siendo 0,2 UE/Kg para administración intratecal.

Para los radiofármacos el límite de la concentración de endotoxina es de 175 UE/V por mililitro de inyección, donde V es el volumen máximo recomendado de dosis total en mililitros a la fecha o tiempo de expiración.

❖ Estabilidad:

La naturaleza particular de los radiofármacos exige establecer un periodo de utilización o una fecha límite, sobrepasada la cual no se recomienda su aplicación.

Procesos de dilución, fraccionamiento, esterilización y el uso de diferentes tipos de tapones pueden alterar el pH, la pureza radioquímica, el tamaño de las partículas y la absorción. La dispensación de dosis sucesivas a partir de un vial multi-dosis puede muchas veces afectar la estabilidad del producto que permanece en el vial original, especialmente si este es muy sensible a la presencia de oxígeno y aire.

El periodo de tiempo aprovechable comienza en la fecha en la cual se expresa la radiactividad en la etiqueta, y se especifica en horas, días, semanas o meses. Para los radionucleidos de vida más larga el periodo de utilización no excede de 6 meses. Dicho periodo depende de la estabilidad radioquímica y de la cantidad de impurezas radionucleídicas de larga vida que contenga la preparación.

En la fecha límite, la radiactividad habrá descendido de tal modo que la que conserva resulta insuficiente para los fines a los que se destina o bien habría que aumentar la dosis del principio activo de tal modo que se producirían respuestas fisiológicas indeseables. Además la descomposición radioquímica hasta límites inaceptables. Por otra parte, es tal que la dosis de radiaciones resulte excesiva para el paciente. Por todo ello el empleo de productos más allá de su fecha límite es imprudente.

❖ Isotonicidad:

Se llama isotónica a las soluciones que tienen igual presión osmótica. En el caso de una solución inyectable se debe considerar la Isotonicidad con respecto al suero sanguíneo.

En la mayoría de los radiofármacos que se administran por vía endovenosa, el volumen utilizado es tan pequeño que pueden tolerarse desviaciones importantes de la Isotonicidad, sin



que ello ocasiona inconvenientes a los pacientes, dada la rápida dilución en la sangre. En cambio, la isotonicidad es esencial en aquellos que determinan la presión osmótica por medio del descenso crioscópico.

Debido a que la fuerza iónica y el pH son factores importantes en la estabilidad de un radiofármaco, cuando se debe diluir el producto final, se deberá usar un diluyente apropiado, de preferencia el mismo disolvente utilizado en la preparación original.

❖ Biodistribución:

Estudios de Biodistribución en animales de experimentación constituyen un control de rutina en radiofarmacia industrial, son evaluaciones esenciales para el establecimiento y eficacia de todo nuevo agente de radiodiagnóstico y radioterapia.

El objetivo de esta evaluación es determinar la potencial utilidad en humanos a partir de resultados en animales. Por ello la elección del modelo debe tener en cuenta las diferencias anatómicas y funcionales de manera que se asemejen lo más posible a la situación crítica que se va a evaluar.

En los estudios de biodistribución se utilizan animales de laboratorio se utilizan animales de laboratorio como perros, conejos, ratones o ratas. La inyección de un radiofármaco en los animales de experimentación puede realizarse por vía intravenosa (vena dorsal de la cola, del pene en el caso de los machos adultos o la vena femoral), intraperitoneal o interdigital.

La dosis y el producto que se desea inyectar dependen del radiofármaco, de la vía de administración y de la finalidad del estudio.

Después de la inyección del producto radiactivo en el animal y transcurrido el tiempo predeterminado, se coloca al animal bajo una gammacámara y se efectúa el estudio de forma similar que con humanos (técnica no invasiva) o se les sacrifica (técnica invasiva, usada generalmente con ratas o ratones) para posteriormente extraer los órganos de interés cuidando de remover todos los tejidos adyacentes. También puede procederse al estudio de localización por técnicas de autoradiografía (a nivel de cuerpo entero, órganos o estructuras).

En caso de disección del animal se determina la radiactividad de los órganos considerando que las muestras sean representativas y que no se produzcan errores debido a geometría, conteo, etc. Para evaluar los resultados, se puede determinar relaciones tales como:

- El porcentaje de la radiactividad por órgano en relación a la dosis inyectada en el animal.
- La actividad específica, es decir, porcentaje de dosis/gramo de tejido.



- Correlación entre órganos, es decir, relación por ciento dosis/g en órgano específico por ciento dosis/g en órgano circundante.

Para calcular la dosis inyectada se considera como 100 por ciento la sumatoria de la radiactividad en los órganos disectados, más la actividad de la muestra de sangre, carcaza y orina. También puede determinarse midiendo la radiactividad de la jeringa antes y después de la inyección o preparando un estándar.

❖ **Afinidad Biológica:**

Algunos radiofármacos incluyen marcación de anticuerpos y péptidos, los que requieren controles específicos que garanticen su inmunoreactividad.

El uso de preparaciones de anticuerpos de baja inmunoreactividad es inaceptable para muchas de las aplicaciones “in vivo”, ya que si la fracción no reactiva es significativa, puede constituir un fondo no específico en la imagen y una dosis inespecífica en aplicaciones terapéuticas.

La inmunoreactividad puede ser determinada midiendo la fracción del anticuerpo unido al antígeno en relación a la concentración del anticuerpo total, en una solución o suspensión de antígeno. La extrapolación a concentración infinita de antígeno dará la fracción inmunoreactiva.

❖ **Toxicidad:**

En el diseño del nuevo radiofármaco es necesario considerar el balance riesgo-beneficio que resulta de su utilización en humanos. El riesgo debe ser considerado en riesgo de toxicidad cuyo estudio tiene por objetivo establecer un factor de seguridad y determinar cuál será la reacción por sobredosis.

❖ **Etiquetado:**

En general, sobre el recipiente inmediato (por ejemplo, el envase) debe figurar la siguiente información:

1. Nombre de la preparación.
2. Indicación de que el producto es radiactivo.
3. Nombre y dirección del fabricante.
4. Radiactividad total existente en la fecha y hora que se indica (cuando el tiempo de vida media es superior a 30 días, basta con especificar la fecha).
5. La fecha límite o el periodo de utilización.
6. Un número u otra indicación que permita identificar el origen del producto, por ejemplo el número del lote de fabricación.
7. En el caso de una solución, el volumen total de la misma.



8. Condiciones especiales de conservación en lo que respecta a luz y temperatura.

En el caso de una solución, en lugar de declarar la radiactividad total, podrá expresarse la concentración radiactiva (por ejemplo, MBq por mL de solución).

La expedición de productos radiactivos está sujeta a los reglamentos nacionales e internacionales. Desde el punto de vista de envasado y etiquetado.

❖ Conservación:

Los radiofármacos deben guardarse en recipientes bien cerrados y se almacenarán en un lugar reservado al efecto. Las condiciones de conservación deberán ser tales que la producción máxima de radiación a la que estén expuestas las personas quede reducida a un nivel aceptable. Hay que preocuparse de que se cumplan los reglamentos nacionales sobre protección contra las radiaciones ionizantes. Los recipientes de vidrio se pueden oscurecer por efecto de las radiaciones. (FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS, 2008)



ANEXO “C”

“Estudio de Prospectiva”

Es importante saber que una vez obtenida la síntesis química del radiotrazador $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ es necesario hacerle ensayos clínicos para lanzarlo al mercado, ya que exige un protocolo clínico que haga posible el uso y consumo humano.

Sin embargo, el diagnóstico por imagen en Medicina Nuclear y Molecular, trata de obtener una visión del futuro del sector de diagnóstico por imagen, con objeto de poner al alcance de los profesionistas del sector, y en particular de los responsables de las políticas de innovación tecnológica.

El material de estudio permite reflexionar y sirve de apoyo e inspiración a la toma de decisiones. Mediante el aporte de dicha información, se cumple el objetivo de distribuir el conocimiento de las tendencias en todos aquellos sectores de mayor interés por la industria, la tecnología y en este caso con especial incidencia para el desarrollo y bienestar social.

Ahora bien, para darle un ensayo clínico y/o pruebas clínicas al radiotrazador $[^{18}\text{F}]\text{FES}$ se sugiere lo siguiente:

- Dar una descripción breve y concisa del proceso llevado a cabo para la preparación de radiotrazador.
- Conocer los resultados de las pruebas de control de calidad.
- Identificar el animal de laboratorio adecuado para un estudio puntual, basándose en el peso, tamaño y forma.
- Identificar un rango de vida de los animales de laboratorio.
- El modo de inyección.
- Hacer una tabla de los animales sanos, enfermos e inducidos.
- Conocer el tiempo de respuesta.
- Tipo de procedimiento.
- Rango de la cantidad de radiotrazador inyectado a los animales.

Sin embargo, de acuerdo al sector profesional interesado puede apoyarse de estudios anteriormente efectuados para mejorar el desarrollo de estas pruebas clínicas.



▪ **Bibliografía.**

- Adam MJ. (2002) **Radiohalogenated carbohydrates for use in PET and SPECT.** J Labelled Compd Radiopharm 14: 175-182.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jlcr.548/pdf>.
- Becherer A., (2004) **Imaging of Advanced Neuroendocrine Tumors with 18F-FDOPA PET.** J Nucl Med 45:1161-1167.
<http://jnm.snmjournals.org/content/45/7/1161.full.pdf>.
- Benard F. (2008) **[F-18]fluorinated estradiol derivatives for oestrogen receptor imaging: impact of substituents, formulation and specific activity on the biodistribution in breast tumour-bearing mice.** Eur J Nucl Med Mol Imaging 35:1473-1479.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18360749>
- Beuthien-Baumann B. (2000) **Preparation of fluorine-18 labelled sugars and derivatives and their application as tracer for positron-emission-tomography.** Carbohydr Res 327:107-118.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10968678>.
- Buck AK. (2003) **Imaging proliferation in lung tumors with PET: ¹⁸F-FLT versus ¹⁸F-FDG.** J Nucl Med 44:1426-1431.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12960187>
- Chen W. (2005) **Imaging proliferation in brain tumors with ¹⁸F-FLT PET: comparison with ¹⁸F-FDG.** J Nucl Med 46:945-952.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15937304>
- Ciencias de la Salud: **Diagnóstico por Imagen**, marzo 2009. Estudio de Prospectiva. Fundación OPTI Observatorio de Prospectiva Tecnológica Industrial y FENIN, Federación Española de Empresas de Tecnologías Sanitarias. <http://www.opti.org>.
- **Clinical PET: its time has come?** 1993. Editorial. J Nucl Med 1993; 34:1132-3
- DeGrado TR. (2001) **Synthesis and evaluation of ¹⁸F-labeled choline analogs as oncologic pet tracers.** J Nucl Med 42:1805-1814.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11752077>



- DeGrado TR. (2000) **Synthesis and evaluation of ^{18}F -labeled choline as an oncologic tracer for positron emission tomography: initial findings in prostate cancer.** Cancer Res 61:110-117. <http://cancerres.aacrjournals.org/content/61/1/110.abstract>
- **Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos**, 2008. Novena edición. Volumen I, México. Pág. 421-422, 426-436, 438-440, 339-345, 335-339, 276-291
- Fowler JS. (1999) **PET and drug research and development.** J Nucl Med;40(7):1154-63.
- Francis DL. (2003) **Potencial impact of [^{18}F]3'-deoxy-3'-fluorothymidine versus [^{18}F] fluoro-2-deoxy-d-glucose in positron emission tomography for colorectal cancer.** Eur J Nucl Med Mol Imaging 30:988-994. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12739071>
- Gambhir SS. (2001) **A tabulated summary of FDG PET literature.** J Nucl Med 42:1S-93S. <http://jnm.snmjournals.org/content/49/1/68.abstract>.
- Grant FD. (2008) **Skeletal PET with ^{18}F -Fluoride: applying new technology to and old tracer.** J Nucl Med 49: 68-78. <http://jnm.snmjournals.org/content/49/1/68.abstract>.
- Grierson JR. (2000) **Radiosynthesis of 3'-deoxy-3'-[^{18}F] fluorothymidine: [^{18}F]FLT for imaging of cellular proliferation in vivo.** Nucl Med Biol 27:143-156. [http://www.nucmedbio.com/article/S0969-8051\(99\)00104-3/abstract](http://www.nucmedbio.com/article/S0969-8051(99)00104-3/abstract)
- Gopal B. Saha 2010. **Fundamentals of Nuclear Pharmacy.** 6th edition. Spring New York, 153-174, 145-147.
- Hamacher K. (2002) **Efficient routine production of the ^{18}F -labelled amino acid O-(2-[^{18}F] Fluoroethyl)-L-tyrosine.** Appl Radiat Isot 57:205-212
- Hara T. (2001) **^{18}F -Fluorocholine: a new oncologic PET tracer.** J Nucl Med 12:1815-1817. <http://jnm.snmjournals.org/content/42/12/1815.short>
- Hervás I. (Médico Nuclear); Martí V. J (Radiofísico Hospitalario), 2009. **La Tomografía de emisión de positrones (PET) y la PET-TAC. Dos apuestas seguras**



para un futuro próximo Servicio de Medicina Nuclear. Hospital Universitario “La Fe”. Valencia. España. Pag 75,76. <http://www.seis.es>.

- James W. 1986. **Application of Robotics to Radiopharmaceutical Preparation: Controlled Synthesis of Fluorine-18 16 α -Fluoroestradiol-17 β .** J. Nucl 27:714-721
- Kaim AH. (2002) **¹⁸F-FDG and ¹⁸F-FET uptake in experimental soft tissue infection.** Eur J Nucl Med Mol Imaging 29:648-654.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11976803>
- Kim DW. (2006) **A new class of SN2 reactions catalyzed by solvents: facile fluorination for isotopic labeling of diagnostic molecules.** J. Am Chem Soc 128:16394-16397. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja0646895>
- Krasikova RN. (2008) **No carrier added synthesis of O-(2'-[¹⁸F] Fluoroethyl)-L-tyrosine via a novel type of chiral enantiomerically pure precursor, NiII complex of a (S)'tyrosine Schiff base.** Bioorg Med Chem 16:4994-5003.
- Kumar R. (2005) **Clinical applications of fluorodesoxyglucose-positron emission tomography in the management of malignant melanoma.** Curr Opin Oncol 17: 154-159. http://journals.lww.com/cooncology/Abstract/2005/03000/Clinical_applications.
- Kwee SA. (2004) **Combined use of F-18 fluorocholine positron emission tomography and magnetic resonance spectroscopy for brain tumour evaluation.** J Neuroimaging 14:285-289. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15228773>
- Langen K. (2006) **O-(2-[¹⁸F]fluoroethyl)-L-tyrosine: uptake mechanisms and clinical applications.** Nucl Med Biol 33:287-294.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16631076>
- Lee CS. (2000) **In vivo positron emission tomographic evidence for compensatory changes in presynaptic dopaminergic nerve terminals in Parkinson's disease.** Ann Neurol 47:493-503.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10762161>.
- Lemaire C. (2004) **Highly enantioselective synthesis of no-carrier-added 6-[¹⁸F]Fluoro-L-dopa by quiral phase transfer alkylation.** Eur J Org Chem 2899-2904.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejoc.200400059/pdf>



- Lim J.L. (1996). **The Use of 3-Methoxymethyl-16 β ,17 β -Epiestrol-O-Cyclic Sulfone as the precursor in the Synthesis of F-18,16 α -FES.** Nuclear Medicine and Biology, Vol. 23 911-915.
- López-Durán Fred. (2007). **Tomografía por emisión de positrones, los nuevos paradigmas.** Unidad PET Ciclotrón, Facultad de Medicina UNAM. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 10(1):26-35.
- Machulla H-J. (2000) **Simplified labeling approach for synthesizing of 3'-deoxy-3'-[¹⁸F] fluorothymidine ([¹⁸F]FLT).** J Radioanal Nucl Chem 243:843-846. <http://www.springerlink.com/content/w31421780017769n/>
- Magdy M. (2011). **Basic Sciences of Nuclear Medicine.** Springer-Veldarg Berlin Heidelberg, pag 70-77.
- Margarita Núñez, 2008. **Tomografía por emisión de positrones (PET): Fundamentos.** Escuela Universitaria de Tecnología Médica Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay. Comité de Tecnólogos de ALASBIMN.
- Martin SJ. (2002) **A new precursor for the radiosynthesis of [¹⁸F]FLT.** Nucl Med Biol 29:263-273. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11823132>
- Mier W. (2002) **[F-18]FLT; portrait of a proliferation marker.** Eur J Nucl Med Mol Imaging 29:165-169.
- Mock. (1997). **A color spot test for the detection Kryptofix 2.2.2 in FDG preparations.** Nuclear Medicine and Biology. Volume 24, Pag 193.
- Moreira R. 2005. **Principios y elementos de un ciclotrón.** XIV Seminario de Ing. Biomédica 2004. Facultades de Medicina e Ingeniería - Univ. de la República Oriental del Uruguay. <http://www.nib.fmed.edu.uy/Seminario2005>.
- Organización Mundial de la Salud, 2008. La lucha contra el cáncer tiene que ser una prioridad del desarrollo. Documento revisado el 24 de agosto de 2011, de: <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2008/s09/es/index.html>.
- Organización Mundial de la Salud, 2009. Salud de la mujer. Nota descriptiva No.334, Noviembre de 2009. Documentos revisado el 24 de agosto de 2011, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs334/es/index.html>.



- Organización Mundial de la Salud [OMS], (2011). **Cáncer**. Nota descriptiva No. 297. Documento revisado el 24 de agosto de 2011, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>
- Pauleit D. (2005) **O-(2-[¹⁸F] Fluoroethyl)-L-tyrosine PET combined with MRI improves the diagnostic assessment of cerebral gliomas**. Brain 128:678-687.
 - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17401087>
- Peñuelas Sánchez I. (2001). **Radiofármacos PET**. Unidad de Radiofarmacia. Servicio de Medicina Nuclear. Clínica Universitaria de Navarra. Rev. Esp. Med. Nuclear 20, 6 (477-498).
- **Practical procedures and pharmacological applications of quantitative PET**. Editorial. J Nucl Med; 34:1006-8.
- Reske SN. (2001). **FDG-PET for clinical use**. Eur J Nucl Med 28: 1707 - 1723. <http://www.springerlink.com/content/80p3ucpf2hr05mla/>.
- Römer F. (1999). **Automated production of 16 α -[¹⁸F]FES for breast cancer imaging**. Nucl Med Biol 26:473-479.
- Shields AF (2006) **Positron emission tomography measurement of tumor metabolism and growth: its expanding role in oncology**. Mol Imag Biol 8:141-150. <http://www.springerlink.com/content/hr8q02864025586v/>
- Stocklin GL. (1998). **Is there a future for clinical fluorine-18 radiopharmaceuticals (excluding FDG)?** Eur J Nucl Med; 25(12): 1612-6.
- Sundararajan L. (2007) **18 fluoroestradiol**. Sem Nucl Med 37:470-476. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17920354>
- Tetsuya Mori. 2006. **Automatic synthesis of [¹⁸F] FES using a cassette-type [¹⁸F] fluorodeoxyglucose synthesizer**. Nuclear Medicine and Biology, Vol. 33 281-286.
- Van Waarde. (2004) **Selectivity of ¹⁸F-FLT and ¹⁸F-FDG for differentiating tumor from inflammation in a rodent model**. J Nucl Med 45:695-700. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15073267>



- Windhorst AD. (2008) **3'-Sulfonylesters of 2, 5'-anhydro-1-(2-deoxy- β -D-threo-pentofuranosyl) thymine as precursor for the synthesis of [18 F]FLT: syntheses and radiofluorination trials.** Nucl Med Biol 35:413-423.
[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=3%E2%80%99-Sulfonylesters%20of%202%2C%205%E2%80%99-anhydro1-\(2-deoxy-%20CE%B2-D-threo-pentofuranosyl\)thymine%20as%20precursor%20for%20the%20synthesis%20of%205B18F%5DFLT%3A%20syntheses%20and%20radiofluorination%20trials](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=3%E2%80%99-Sulfonylesters%20of%202%2C%205%E2%80%99-anhydro1-(2-deoxy-%20CE%B2-D-threo-pentofuranosyl)thymine%20as%20precursor%20for%20the%20synthesis%20of%205B18F%5DFLT%3A%20syntheses%20and%20radiofluorination%20trials)
- Yamamoto Y. (2008) **Comparison of 18 F-FLT PET and 18 F-FDG for preoperative staging in non-small cell lung cancer.** Eur J Nucl Med Mol Imaging 35:236-245.
<http://www.springerlink.com/content/28ru63771685j300/>
- Yun M. (2003) **High radiochemical yield synthesis of 3'-deoxy-3'-[18 F]fluorothymidine using (5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-3'-O-nosyl- β -D-threo-pentofuranosyl) thymine and its 3-N-BOC-protected analogue as a labeling precursor.** Nucl Med Biol 30:151-157.