

Análisis por activación neutrónica de los principios activos de MIBI, MAG-3 y fitato de sodio

G. Capote Rodríguez¹, A.T. Hernández Rivero²,
J. Moreno Bermúdez², S. Ribeiro Guevara³,
J. Molina Insfrán⁴, G. Pérez Zayas¹

En el presente trabajo se muestran los resultados obtenidos al aplicar el AANI para la determinación de la composición elemental de tres radiofármacos cubanos (MIBI, MAG-3 y fitato de sodio).

Introducción

El análisis por activación neutrónica (AAN), tanto en su variante instrumental (AANI) como mediante separación radioquímica (AANR), se utiliza ampliamente para la determinación de elementos minoritarios y trazas en muestras de variada naturaleza y constitución.

En particular numerosos autores [1-5] han aplicado el AANI al estudio y determinación de elementos trazas en materiales biológicos, específicamente metales pesados, elementos tóxicos y otros de interés.

En la literatura consultada no se reporta el empleo del AANI en muestras de fármacos. Lo anterior puede ser originado tanto por la especificidad de este tipo de muestras, como por la necesidad de tener acceso a los flujos de un reactor nuclear.

Tomando en cuenta los requerimientos analíticos existentes para el registro médico

de radiofármacos, se consideró de interés estudiar la factibilidad de aplicar para estos fines el AANI.

En el presente trabajo se muestran los resultados alcanzados al aplicar el AANI para la determinación de la composición elemental de tres radiofármacos cubanos (MIBI, MAG-3 y fitato de sodio).

Materiales y métodos

La irradiación de las muestras se realizó en el reactor de investigación del Centro Atómico Bariloche, Argentina. El reactor RA-6 es de tipo piscina y sus elementos combustibles son de uranio enriquecido al 90%, utilizando agua desmineralizada como moderador y refrigerante. Su potencia máxima es de 500 kW y en la zona de irradiación se obtienen flujos de aproximadamente 6×10^{12} n/cm².s para los neutrones térmicos y de 2×10^{11} n/cm².s para los epitérmicos. Se analizaron los principios activos de tres radiofármacos: el complejo cuproso de 2-metoxi-isobutil isonitrilo (MIBI), el benzoil-mercapto-acetil triglicina (MAG-3) y el fitato de sodio. Como patrones se utilizaron dos muestras de referencia certificadas (MRC), suministradas por el OIEA: "dried copepoda" y "lyophilised fish tissue" [6]. Se prepararon dos réplicas por cada muestra.

¹ Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear (CEADEN), La Habana, Cuba.

² Centro de Isótopos, La Habana, Cuba.

³ Centro Atómico Bariloche (CAB), San Carlos de Bariloche, Argentina.

⁴ Universidad Nacional de Asunción (UNA), Asunción, Paraguay.

Tanto los fármacos como las MRC se secaron hasta peso constante a temperatura ambiente en una desecadora, se envasaron en portamuestras cilíndricos de polietileno que se sellaron con calor y se introdujeron en contenedores de aluminio con cierre a presión. El peso de muestra utilizado fue:

MIBI: 12-15 mg

Fitato de sodio: 200 mg

MAG-3: 50-100 mg

MRC: 200 mg

Para determinar la concentración de varios elementos (Hg,Cd,Se,As,Fe) por el método relativo, además del uso de las MRC del OIEA, se utilizaron muestras de referencia sintéticas (MRS) preparadas sobre papel de filtro (grado analítico) a partir de soluciones de reactivos químicos de pureza analítica. Una vez depositadas las alícuotas (con los contenidos requeridos para cada elemento) sobre el papel de filtro, se secan a temperatura ambiente y se colocan dentro de sobres de LAVSAN manteniendo una geometría constante. En la elaboración de las MRS se tuvo en cuenta la matriz de los fármacos. Así, se considera el contenido mayoritario de Cu en el MIBI y de Na en el fitato.

El contenido de los elementos de interés en las MRS fue el siguiente:

Fe: 10 μg

As: 9,7 μg

Hg, Se, Cd: (0,025-20 μg) con un factor de incremento del contenido entre cada muestra aproximadamente igual a 2.

Además, se añadió 1,75 mg de Cu en las MRS para MIBI y MAG-3 y 48 mg de Na en las MRS para el fitato.

Las MRS de selenio se prepararon por separado para evitar el aporte interferente del pico $E_g = 279,5$ keV del ^{75}Se en la línea analítica del ^{203}Hg ($E_g = 279,2$ keV) [8]. Para evaluar este tipo de aporte en las muestras

analizadas, se elaboró e irradió junto con las mismas, una MRS con 20 μg de ambos elementos. Como línea de referencia para el cálculo del aporte se tomó la línea del ^{75}Se con $E_g = 264,6$ keV. Se realizaron dos irradiaciones:

1. Se incluyeron las muestras de fitato de sodio, las MRC y las MRS. El tiempo de irradiación (t_{irr}) fue de 10 horas.
2. Se irradiaron ($t_{\text{irr}} = 20\text{h}$) los fármacos de MIBI y MAG-3 así como réplicas de las MRC y MRS.

Todas las muestras se midieron dos veces con el objetivo de determinar la mayor cantidad de elementos y eliminar posibles interferencias. La primera medición permitió determinar los elementos que originan productos de activación con períodos de semidesintegración ($T_{1/2}$) relativamente cortos (Na,As,Br,Cd) y la segunda, el resto de los elementos que forman radionúclidos con $T_{1/2}$ más largos. En el Cuadro 1 se reportan los tiempos de irradiación (t_{irr}), decaimiento (t_{enf}) y medición (t_{med}) utilizados, así como los elementos determinados en cada medición.

Los espectros gamma de las muestras activadas se registraron mediante dos sistemas espectrométricos:

1. Sistema 1: compuesto por un detector HPGe con ventana de Be de la firma ORTEC con resolución energética de 1,5 keV para la línea de 662 keV del ^{137}Cs y 1,8 keV para la línea 1173 keV del ^{60}Co , acoplado a un sistema espectrométrico con un AMC de 4096 canales y a una PC (Centro Atómico Bariloche).
2. Sistema 2: conformado por un detector HPGe de la firma SILENA con resolución energética de 2,0 keV y 2,4 keV para las líneas mencionadas en el punto 1) respectivamente. Igualmente se utilizó un AMC de 4096 canales acoplado a una PC (Centro de Isótopos).

Cuadro 1. Regímenes de irradiación y medición de las muestras.

Muestra	t _{irr} (h)	Primera medición			Segunda medición		
		t _{enf} (d)	t _{med} (h)	Elementos	t _{enf} (d)	t _{med} (h)	Elementos
MIBI	20	6-8	2-4	As,Br,Cd,Na,Cr	92-96	2	Fe,Zn,Co,Hg,Sb,Se
MAG-3	20	6-8	2-4	"	92-96	2	"
MRC,MRS	20	6-8	0,5	"	92-96	1	"
Fitato	10	18	15	Rb	111	3,5	Fe,Zn,Co,Hg,Sb,Se
MRC,MRS	10	10	0,5	"	111	2	"

Para procesar los espectros en la primera medición se emplearon los programas GANAAS (distribuido por el OIEA) y ACTAN [7] y los métodos absoluto y relativo de cálculo de las concentraciones.

La aplicación del primer método exigió determinar con exactitud los flujos de neutrones térmicos y epitérmicos. Con este propósito, se colocaron monitores de Co y Al-Au en los extremos de los contenedores de aluminio.

Los cálculos por el método relativo se realizaron con el programa ACTAN utilizando las MRC y MRS mencionadas anteriormente.

Para la segunda medición las muestras se extrajeron de los contenedores de polietileno, se reenvasaron en contenedores no irradiados del mismo material y se mantuvieron durante 7-10 días en una desecadora. Esta operación evitó que una posible contaminación externa del contenedor irradiado afectara negativamente la determinación de elementos traza.

Cuadro 2. Datos nucleares de las reacciones [8].

Radionúclido	T _{1/2}	Reacción	Fotopicos (keV)
²⁴ Na	15,0 h	²³ Na (n,g) ²⁴ Na	1368,6
⁵¹ Cr	27,7 d	⁵⁰ Cr (n,g) ⁵¹ Cr	320,1
⁵⁹ Fe	44,5 d	⁵⁸ Fe (n,g) ⁵⁹ Fe	1099,2,1291,6
⁶⁰ Co	5,27 a	⁵⁹ Co (n,g) ⁶⁰ Co	1173,2,1332,5
⁶⁵ Zn	244 d	⁶⁴ Zn (n,g) ⁶⁵ Zn	1115,5
⁷⁶ As	26,4 h	⁷⁵ As (n,g) ⁷⁶ As	559,1
⁷⁵ Se	120 d	⁷⁴ Se (n,g) ⁷⁵ Se	264,6
⁸² Br	1,47 d	⁸¹ Br (n,g) ⁸² Br	554,3, 776,5
⁸⁶ Rb	18,7 d	⁸⁵ Rb (n,g) ⁸⁶ Rb	1076,6
¹¹⁵ Cd	2,23 d	¹¹⁴ Cd (n,g) ¹¹⁵ Cd	527,9
¹²⁴ Sb	60,2 d	¹²³ Sb (n,g) ¹²⁴ Sb	602,7, 1691,0
²⁰³ Hg	46,6 d	²⁰² Hg (n,g) ²⁰³ Hg	79,2

Para el tratamiento de los espectros y el cálculo de las concentraciones por el método relativo se aplicó el programa ACTAN. Los datos nucleares y las líneas gamma analíticas utilizadas se muestran en el Cuadro 2.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos para las tres muestras estudiadas se muestran en el tabla 3. Como se observa en el Cuadro 3, para las muestras de MIBI y MAG-3, los elementos identificados fueron determinados con exactitud aceptable, exceptuando el Fe y As para la muestra de MIBI y el Se y Cd para ambas. En el caso de Se y Cd, se reportan los LD calculados por el criterio de $3 F^{1/2}$ (donde F es el fondo bajo el fotopico analítico) utilizando las MRS. Para el caso del Fe en el MIBI, el LD se determinó a partir de la medición de las MRC, debido a que la concentración del mismo en las MRS

(10 µg) es inferior al LD. Esto explica la ausencia de las líneas gamma del isótopo analítico (Fe) en las MRS.

El contenido de As, determinado en las 2 réplicas de MIBI (pesos 14,8 mg y 12,7 mg respectivamente) difiere significativamente, lo cual puede ser debido al bajo peso de las muestras [9] y posible no homogeneidad de la distribución de este elemento en las mismas.

Se detectó contaminación en la superficie exterior de parte de los contenedores de polietileno irradiados, la cual fue causada por un determinado grado de volatilización del Hg de las MRS. Esta contaminación se eliminó mediante el reenvasado de las muestras, descrito en materiales y métodos.

Debido a lo anterior el cálculo de las concentraciones de Hg en las muestras se realizó utilizando las MRC.

Cuadro 3. Resultados analíticos obtenidos mediante AANI en las muestras de fármacos.

Fármaco	Na(ppm)	Cr(ppm)	Fe(ppm)	Zn(ppm)	As(ppm)	Br(ppm)
MIBI	220±15	10±1	<50 ⁽²⁾	20±4	0,8-2,0	4,5±0,6
MAG-3	410±25	13±1	130±30	43±4	1,2±0,2	8 ± 1
Fitato	no det ⁽¹⁾	<1 ⁽²⁾	<20 ⁽²⁾	2,5±0,5	no det ⁽¹⁾	no det ⁽¹⁾

Fármaco	Co(ppm)	Hg(ppm)	Sb(ppm)	Se(ppm)	Cd(ppm)
MIBI	0,6±0,1	0,8±0,2	0,11±0,02	<0,02 ⁽²⁾	<0,2 ⁽²⁾
MAG-3	0,10±0,01	0,8±0,2	0,11±0,02	<0,02 ⁽²⁾	<0,2 ⁽²⁾
Fitato	<0,05 ⁽²⁾	<0,05 ⁽²⁾	<0,1 ⁽²⁾	<1 ⁽²⁾	no det ⁽¹⁾

(1) no determinado, debido al $t_{enf}=18 d \gg T_{1/2}$.

(2) límite de detección (LD) calculado por el criterio $3 F^{1/2}$, donde F es el área del fondo bajo el fotopico analítico. Los intervalos de confianza fueron determinados con un 90 % de confiabilidad. Se determinó el LD para el Rb en el fitato, siendo <0.2 ppm.

El análisis por activación neutrónica instrumental de las muestras de fitato de sodio se dificulta seriamente debido al elevado contenido de sodio ($^{23}\text{Na}(n,g)^{24}\text{Na}$, $T_{1/2}=15$ h) y fósforo ($^{31}\text{P}(n,g)^{32}\text{P}$, $T_{1/2}=14,3$ d, $E_b=1,7$ MeV, $s=0,18$ barn). La formación y desintegración de los radionúclidos ^{24}Na y sobre todo de ^{32}P ocasiona un fondo y tiempo muerto de los equipos de conteo muy elevados durante un período relativamente prolongado. La emisión de partículas beta por el ^{32}P y su correspondiente frenado en los materiales, originan un espectro continuo muy elevado en la zona energética suave del espectro, que decae hacia la zona de mayores energías. Como resultado de lo anterior, la sensibilidad y exactitud de los análisis empeora sensiblemente, sobre todo para los isótopos, que emiten radiaciones gamma en la región señalada ($E_g < 511$ keV). Además, para lograr mediciones en condiciones experimentales razonables en cuanto al tiempo muerto y a la protección radiológica del personal, se requieren t_{enf} superiores a las 2 semanas, de manera que se pierde información de interés analítico por la desintegración de radionúclidos de $T_{1/2}$ relativamente corto. Todo lo anterior se refleja en los resultados que se presentan en el Cuadro 3, donde solamente se ofrece información semicuantitativa del contenido de Zn.

Los análisis de los contenidos elementales en los fitatos se realizaron mediante el método relativo, utilizando las MRC, las cuales presentan determinada similitud con las muestras del fármaco por el contenido relativamente elevado de sodio y fósforo. En este caso no fue posible utilizar las MRS por las diferencias significativas de la matriz con la del fitato.

Conclusiones

1. Se demuestra la posibilidad de aplicar el AANI para la determinación de elementos de interés con vistas al

registro de radiofármacos. En particular, se obtuvo información analítica acerca de los contenidos o límites de detección de elementos tóxicos (Hg, Cd, As, Se, Sb) y otros de interés (Fe, Cr, Co, Zn y Br) en MIBI y MAG-3. La irradiación de muestras con mayor peso ($m > 100$ mg) permitiría elevar la sensibilidad, precisión y exactitud del método.

2. El análisis de fitato de sodio mediante la activación neutrónica no resulta recomendable debido a la elevada actividad inducida en los isótopos de sodio y fósforo, elementos mayoritarios en este tipo de fármaco. Una alternativa instrumental en este caso puede ser la aplicación del análisis por activación gamma [10,11], en el cual la influencia de los radionúclidos formados por la activación de sodio y fósforo no resulta una limitante de importancia.

Referencias

- [1] Parr R.M., Muramatsu Y. and Clements S.A. "Survey and evaluation of available biological reference materials for trace element analysis". *Fresenius Z Anal. Chem.* (1987) 326, p.601-608.
- [2] Quality assurance in biomedical neutron activation analysis. *IAEA-TECDOC-323*. Vienna, 1984.
- [3] Michel R. et al. "Neutron activation analysis of human tissues, organs and body fluids to describe the interaction of orthopaedic implants made of Co-Cr alloy with the patients organism". *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*. Vol. 113, Nº 1, June 1987, p.83.
- [4] Lepel E.A., Laul J.C. "Trace rare earth element analysis of IAEA Hair (HH-1), Animal Bone (H-5) and other biological standards by radiochemical neutron activation". *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*. Vol. 113, Nº 1, June 1987, p.275.
- [5] Versieck J. et al. "Collection and preparation of a second generation biological reference material for trace element analysis". *J.*

Radioanal. Nucl. Chem.,Articles. Vol. 113,
Nº 1, June 1987, p. 299.

- [6] Analytical Quality Control Services.
Intercomparison runs Reference Materials.
IAEA. Vienna,Austria. 1994.
- [7] Pérez R.,Capote R. *et al. Final Report of the*
IAEA Research Contract 5014. Research
and Development of software for Neutron
Activation Analysis. La Habana, Cuba.1993.
- [8] Mednis I.V. Emisiones gamma de los
radionúclidos, utilizados en el análisis por
activación neutrónica (en ruso). Editorial
"Zinatne",Riga.1987.
- [9] Muramatsu Y., Parr R.M. (1985)
International Atomic Energy Agency, Austria,
Report N. IAEA/RL/128, 74 pp.
- [10] Gruzin P.L. y col. "Posibilidades del AAG
para la determinación de la composición

elemental de objetos médico-biológicos y
ecológicos". Memorias de la III Conferencia
sobre aplicación de los aceleradores de
partículas ionizantes en la economía.
Leningrado, NIEFA, 1979, Tomo IV p. 11-20
(En ruso).

- [11] Hernández A.T. Tesis de Candidato a
Doctor. IUIN, Dubná, 1984. 180p (En ruso).

Los autores agradecemos al Dr. Marcos
Cohen, Coordinador del programa ARCAL en la
Argentina, por el apoyo ofrecido a la realización
de este trabajo, así como al Lic. Abraham
Kestelman y a la Ing. María Arribére por sus
valiosas recomendaciones.

De igual forma agradecemos al personal del
reactor RA-6 del CAB donde fue posible realizar
la irradiación de las muestras.