

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades

Keido
C. L. J.
19. I. 93

BIBLIOTECA
DE LA
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

ESTABLECIMIENTO DE LA VIDA UTIL DE OCHO RADIOFARMACOS
MANUFACTURADOS EN LA DIRECCION GENERAL DE ENERGIA NUCLEAR
(DGEN)

MARTHA ELISA SIERRA LIGORRIA

Guatemala

1992



ESTABLECIMIENTO DE LA VIDA UTIL DE OCHO RADIOFARMACOS
MANUFACTURADOS EN LA DIRECCION GENERAL DE ENERGIA NUCLEAR
(DGEN)

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades

BIBLIOTECA
DE LA
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

ESTIMACION DE LA VIDA UTIL DE OCHO RADIOFARMACOS
MANUFACTURADOS EN LA DIRECCION GENERAL DE ENERGIA NUCLEAR
(DGEN)

MARTHA ELISA SIERRA LIGORRIA

Trabajo de investigación presentado para optar
el grado académico de Licenciatura en Química Farmacéutica

Guatemala

1992

Vo. Bo.:

(f) 
Lic. Celestina Portillo de Palma
Asesor

Tribunal:

(f) 
Lic. Celestina Portillo de Palma

(f) 
Lic. Cisludia Corado

(f) 
Lic. E. Ortega

Fecha de aprobacion: 30 de Noviembre de 1992

TESIS QUE DEDICO

A Dios

A mi esposo

A mis padres

Juan Pablo Montenegro

Lic. Ramón Sierra Sch.
Mercedes Ligorría de Sierra

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Dirección General de Energía Nuclear (DGEN), al personal profesional y técnico del Laboratorio de Radiofarmacia, por su colaboración y apoyo para realizar este trabajo. En especial a la Licenciada Celestina Portillo de Palma por su asesoría.

Al Lic. Armando Leiva

A la familia Mendizábal Solé

Por su valiosa colaboración.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación es estimar el tiempo de vida útil de ocho radiofármacos en forma liofilizada manufacturados en la Dirección General de Energía Nuclear (DGEN). Para ello se realizaron pruebas de estabilidad acelerada a 3 diferentes temperaturas (5°C, 25°C y 40°C) durante tres meses.

De acuerdo a su comportamiento de degradación se aplicaron fórmulas de cinética de reacción, encontrando que éstos siguieron una velocidad de reacción de cero orden. Con esto se calculó la velocidad de degradación (k) y su tiempo de vida útil aproximado.

El análisis de resultados se llevó a cabo con un análisis de varianza por bloques a un nivel de confianza de 0.05. Este demostró que existe una diferencia significativa entre el tiempo de vida útil, las temperaturas y los tiempos de almacenamiento para el radiofármaco DISIDA. Se obtuvo una fecha de expiración estimada de 10.37 meses almacenado a 5°C.

Para el radiofármaco MAA se observó una diferencia significativa entre el tiempo de vida útil y los tiempos de almacenamiento. Su fecha de expiración estimada es de 6.39 meses almacenados a 5°C.

En el caso de DTPA y Pirofosfato para corazón no se encontró una diferencia significativa entre las dos variables. Su fecha de expiración estimada es de 3.07 meses y 59 meses, respectivamente.

Para los radiofármacos GH, DMSA, MDF y Pirofosfato para marcar glóbulos rojos, no se logró estimar su fecha de expiración.

CONTENIDO

I. RESUMEN	ix
I. INTRODUCCION	1
II. MARCO CONCEPTUAL	3
A. Antecedentes	3
B. Justificaciones	4
C. Alcance y límites del problema	5
III. MARCO TEORICO	6
A. Producción de los radiofármacos de vida corta	7
B. Radiofármacos marcados con ^{99m}Tc y sus aplicaciones	9
C. Estabilidad acelerada de los radiofármacos	10
D. Principios de cinética de degradación	14
E. Control de calidad de los radiofármacos	17
IV. MARCO METODOLOGICO	19
A. Objetivos	19
B. Hipótesis	19
C. Variables	20
D. Población y muestra	20
E. Procedimiento	20
F. Diseño de investigación	23
G. Análisis estadístico	24

V. MARCO OPERATIVO	25
A. Recabación y tratamiento de datos	25
B. Recursos	25
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	28
VII. CONCLUSIONES	35
VIII. RECOMENDACIONES	37
IX. BIBLIOGRAFIA	38
APENDICE	
A. Modelo de cálculos	41
B. Tablas	45
C. Gráficas	56
D. Formulación de radiofármacos	64

1. INTRODUCCION

Actualmente Guatemala cuenta con un Laboratorio de Radiofarmacia Centralizada, ubicado en la Direccion General de Energia Nuclear (DGEN). En él se producen diferentes radiofármacos liofilizados, tales como: Acido dimercaptosuccinico (DMSA), Acido diisopropil-iminodiacético (DISIDA), Macroagregados de albúmina (MAA), Metilendifosfonato (MDP), Pirofosfato, etc., para ser marcados con tecnecio 99 metaestable (^{99m}Tc).

Para garantizar la utilidad de dichos radiofármacos es necesario evaluar diversos parámetros, entre ellos su pureza radioquímica, la cual consiste en determinar el porcentaje de actividad del radionucleido unido a la forma química establecida con relación a la actividad total presente de dicho radionucleido. Constituye un factor determinante en la reproducibilidad de un procedimiento diagnóstico, ya que si bien las impurezas radioquímicas raramente ocasionan reacciones tóxicas, sí alteran la biodistribución de la preparación radiofarmacéutica (1).

Durante el almacenamiento de la parte química de un radiofármaco puede ocurrir descomposición independientemente de la radiactividad, estando en función de variables tales como temperatura, luz, pH, oxígeno, solventes, etc. Por esto es necesario llevar a cabo un estudio de estabilidad para garantizar la integridad del producto, su conservación y su vida útil.

En la actualidad se les asigna a los radiofármacos liofilizados producidos en la DGEN una fecha de expiración tentativa con base en referencias bibliográficas. Por lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo determinar a través de pruebas de estabilidad acelerada y estudios de cinética de degradación, la fecha de vencimiento y condiciones de almacenamiento de los mismos.

II. MARCO CONCEPTUAL

A. Antecedentes

El conocimiento logrado en los cuatro últimos decenios sobre el átomo, y más en particular sobre el núcleo, así como el avance tecnológico con ellos relacionado, permitió el nacimiento de la Medicina Nuclear, que se ha desarrollado en dos caminos: el tratamiento y el diagnóstico de las enfermedades (2).

En la actualidad no es posible concebir algún estudio de investigación fisiológica o química-biológica donde no se empleen, en algunos pasos, sustancias radiactivas (2).

La Medicina Nuclear se inició en Guatemala en el año 1962, con la creación de la Unidad de Medicina Nuclear del Hospital Roosevelt, realizándose estudios de fisiopatología de la glándula tiroides con Iodo 131 (^{131}I). En 1972 se comenzó a utilizar el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ como agente radiodiagnóstico (1).

El Hospital San Juan de Dios cuenta con el Departamendo de Medicina Nuclear en convención con la DGEN del Ministerio de Energía y Minas, la cual inició sus actividades en febrero de 1984. Este tiene a su cargo, o entre otros, el diagnóstico in vivo o in vitro y tratamiento de algunas patologías.

En la DGEN se encuentra el laboratorio de Radiofarmacia Centralizada en donde se producen rutinariamente radiofármacos, tanto en forma liofilizada

como en forma líquida. Estos radiofármacos son distribuidos del Laboratorio de Radiofarmacia de Departamento de Medicina Nuclear al Hospital General San Juan de Dios y a la Unidad de Medicina Nuclear del Hospital Roosevelt para utilizarlos en estudios centellográficos de diferentes patologías.

En Guatemala sólo se ha realizado un estudio acerca de la reformulación y liofilización del sulfuro coloidal, y dentro del mismo se estudió su estabilidad. Se determinó su fecha de expiración mediante pruebas de estabilidad acelerada durante cuatro meses. La interpretación de los datos se llevó a cabo con el análisis de la degradación del radiofármaco por medio de gráficas. Y con base en el comportamiento de éstas se logró establecer la fecha de expiración de dicho radiofármaco (12).

B. Justificaciones

En la actualidad la fecha de vencimiento y condiciones de almacenamiento de los radiofármacos en forma liofilizada producidos en la DGEN, se basa en referencias bibliográficas. De acuerdo con las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), se requiere para todos los productos farmacéuticos el establecimiento de estudios de estabilidad acelerada y cinética de degradación que permitan determinar su fecha de

expiración y prever la conservación del radiofármaco.

Por lo anterior y ante la posibilidad de la comercialización de estos productos a nivel nacional y centroamericano, se hace necesaria la realización de dichos estudios para determinar la vida útil propia de los mismos.

C. Alcance y límites del problema

Para decidir sobre el tipo de control de estabilidad a desarrollar, se debe tener en cuenta que las pruebas aceleradas tienen sus limitaciones derivadas de las propiedades físicas y químicas de las drogas y de las características de las formas farmacéuticas.

Los radiofármacos estudiados son productos lábiles que no pueden someterse a condiciones climáticas extremas (mayores de 45°C). Por esta razón y por limitaciones de tiempo, la duración del estudio se llevó a cabo durante tres meses para justificar una fecha tentativa de expiración de dos años.

Otra limitación que presentó este estudio es el tamaño de la muestra. Esta consistió de tres réplicas provenientes de un lote de cada uno de los ocho radiofármacos. La investigación no se pudo llevar a cabo con un mayor número de muestras debido a limitaciones de recursos económicos.

III. MARCO TEORICO

Se denomina radiofármaco a toda sustancia radiactiva que, por su forma farmacéutica y cantidad y calidad de radiación emitida, puede usarse en el diagnóstico o tratamiento de las enfermedades de los seres vivientes, no importa cuál sea la vía de administración empleada(2).

La producción de los radiofármacos consiste básicamente en dos etapas (2).

La primera etapa es la de obtención del radionucleido. En algunos casos, ciertos radionucleidos presentan utilidad diagnóstica o terapéutica en sus formas químicas más simples (por ejemplo, ^{99m}Tc , ^{131}I). Sus soluciones, obtenidas en esta primera etapa, constituyen ya prácticamente el radiofármaco. Es necesario sólo realizar a dichas soluciones activas, simples ajustes de pH y de isotonicidad, así como controles y calibraciones para autorizar su uso (2).

En el caso más complejo de las así llamadas moléculas marcadas, el radionucleido constituye solamente la materia prima, por lo que se deben efectuar, en una segunda etapa, los procesos químicos, fisicoquímicos o biosintéticos necesarios para incorporarlo a la estructura de la molécula que interesa y que es la que le confiere las cualidades farmacológicas requeridas. Luego es necesario realizar una nueva serie de purificaciones,

controles y calibraciones de la molécula marcada (2).

Las formas como los radionucleidos, considerados desde el punto de vista de materia prima, se unen a moléculas más complejas para producir radiofármacos, son variadas, pero se pueden clasificar en tres grupos:

- a. marcación por adsorción o absorción.
- b. marcación por síntesis química.
- c. marcación por biosíntesis (2).

A. Producción de los radiofármacos de vida corta

Los radiofármacos de vida corta son producidos con radionucleidos provenientes de aceleradores compactos instalados en el propio hospital o de generadores (2).

Generalmente se prefieren los radiofármacos de corto período de semidesintegración para los estudios biomédicos, ya que por varias razones se pueden administrar altas actividades de los mismos con mucha menos irradiación final del paciente. De esta manera se obtienen mejores imágenes al perfeccionar la estadística de conteo y se realizan los estudios en tiempos mucho más breves. Lo anterior redundará en comodidad para el paciente, ampliándose al mismo tiempo las posibilidades de atención de los centros. Presentan también menores problemas radiosanitarios respecto de las excretas y residuos radiactivos (2).

Permiten, además, la rápida reiteración de los estudios en los pacientes y, fundamentalmente, han

permitido extender los beneficios de la Medicina Nuclear a la Pediatría (2)

En la práctica, la difusión mayor, por las ventajas que presentan, en relación a su costo, la han alcanzado los isótopos provenientes de generadores, especialmente en el caso de dos de ellos: el generador (Molibdeno-Tecnecio) ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (2).

Un generador es un sistema que contiene un par de radionúcleidos que guardan entre sí una relación "padre-hijo"; es decir, uno de ellos (el "padre") de período relativamente más largo, decae generando el isótopo "hijo", de período mucho más corto: ^{99}Mo (66h) - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (6.04h) (2).

El período de semidesintegración del $^{99\text{m}}\text{Tc}$ es de 6.04 horas, como se indicó anteriormente y la ausencia de emisión beta permite su administración en cantidades del orden milicurie (mCi) sin que esto signifique una dosis de radiación significativa para el paciente. Sus fotones gamma de 140 Kev presentan una adecuada penetración de los tejidos, y pueden ser detectados con alta eficiencia con detectores de NaI (TI). Esto facilita la obtención de imágenes centellográficas con una buena resolución que utiliza colimadores de bajo espesor. Otra característica física que presenta el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ es que decae por transición isomérica (1).

La característica química más importante es que posee

estados de oxidación que van desde -1 a +7 (1). La versatilidad del ^{99m}Tc permite obtener una variedad de compuestos marcados con los que se pueden visualizar casi todos los órganos de interés (2).

B. Radiofármacos marcados con tecnecio 99 metaestable y sus aplicaciones

<u>Radiofármaco</u>	<u>Aplicaciones Centellográficas</u>
Pertecnetato de sodio (Na-TCO ₄)	tiroides y cerebro.
Sal sódica-cálcica del ácido dietilenaminopentá-acético (DTPA-CaNa ₃)	cerebro y riñón.
Coloide de azufre (S°)	hígado, bazo y médula ósea.
Macroagregados de albúmina humana (MAA)	perfusión pulmonar.
Pirofosfato de sodio	tejido óseo, marcación de glóbulos rojos, corazón.
Albumina humana (HSA)	corazón.
Gluptoheptonato de calcio. (GHA)	cerebro y riñón.
(DISIDA)	hepatobiliar.
Metilendifosfonato (MDP)	tejido óseo.
Acido dimercaptosuccínico (DMSA)	corteza renal.

C. Estabilidad acelerada de los radiofármacos

Para decidir respecto del tipo de control de estabilidad a desarrollar, es preciso tener en cuenta que las pruebas aceleradas tienen sus limitaciones derivadas de las propiedades físicas y químicas de las drogas y de las características de las formas farmacéuticas (4).

Estas pruebas se hacen para determinar el efecto del calor, aire, humedad y luz. Ocurre a veces que el deterioro de un producto no se produce en forma lógica o químicamente explicable. En tal caso resulta difícil o imposible determinar el orden de la reacción que se produce y, por ende, la aplicación cinética para determinar el periodo de vigencia. Se acude entonces a métodos empíricos que sirven sólo de orientación y, por lo tanto, los resultados sólo pueden aplicarse con sentido provisorio. Por ejemplo, someter las muestras (en cantidad suficiente para permitir su control periódico) durante algunos meses a temperatura constante (4).

La humedad desempeña una función importante sobre la estabilidad de las formas sólidas y su conservación en los envases (4).

En este caso, el agua aparece, posiblemente por el almacenamiento en una atmósfera húmeda, se adhiere a la superficie sólida de la muestra. Hay poca dificultad para determinar este tipo de agua (5).

El secado por calentamiento es el método más antiguo

para la determinación del agua, a primera vista el más simple. Sin embargo, es un proceso altamente complejo y se corre el riesgo de la pérdida de otros materiales volátiles (5).

Incluso con sus limitaciones, el método de Karl Fischer es el más empleado para la determinación en productos farmacéuticos, tiene gran especificidad por el agua, buena precisión y, para la clase de compuestos que es aplicable, un alto grado de exactitud (5).

El lugar o ambiente en que serán controladas las muestras deberá regularse a una temperatura definida; además contendrá un peso determinado de agua en forma de vapor. Estos dos criterios caracterizan y permiten dar valor a la humedad relativa del aire. Generalmente el problema de la humedad se trata en relación a la temperatura. Ambas condiciones se pueden variar según los autores (4).

Las que se usan con más frecuencia son las que siguen:

Temperatura	Humedad
45°C	95% H.R.
40°C	90% H.R.
37°C	65% H.R.
20°C	20% H.R.
20°C	65% H.R.

Los resultados se valoran a los 8 días en un primer examen, después cada 8 días, en los dos primeros casos; al cabo de un mes en los otros tres. También se recomienda efectuar un examen organoléptico todos los

días durante la primera semana (4).

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) también establecen requisitos relacionados con la fecha de expiración del producto final y los ensayos de estabilidad. Cada producto es único en términos de las propiedades físicas y químicas de sus ingredientes activos y excipientes; procedimientos de manufactura; formulaciones; sistema de envase y cierre; condiciones de almacenaje y la estabilidad del producto para mantener su calidad o pureza (6).

Las BPM recomienda para llevar a cabo las pruebas de estudios acelerados los siguientes requerimientos:

1. El propósito de estudios acelerados es evaluar la degradación cinética, no para determinar uniformidad.
2. El análisis de un lote puede ser aceptable para establecer fechas de expiración tentativas.
3. Se requiere datos de estabilidad de por lo menos tres meses a 37°C-40°C y 75% o más de humedad relativa para justificar una fecha tentativa de dos años.
4. Los estudios acelerados deben ser seguidos por estudios controlados a temperaturas y condiciones ambientales. La combinación de ambos puede justificar una fecha de expiración de más de dos años.
5. No es razonable hacer estudios acelerados a temperaturas altas por tiempos limitados para justificar una fecha de expiración prolongada, ya que

los mecanismos de degradación a temperaturas altas son diferentes a los que ocurren a temperaturas ambientales.

6. Las condiciones de almacenaje (temperatura y humedad relativa) deben ser definidos y registrados.
7. Los análisis de estabilidad deben hacerse en el mismo sistema de envase/cierre utilizado en la distribución y venta del producto (6).

La FDA (Food and Drug Administration) establece que los estudios de estabilidad en las drogas son necesarias cuando no hay disponible adecuada información sobre la estabilidad de las mismas, ya sea proveniente de estudios anteriores o de la Bibliografía. El programa para el estudio de estabilidad incluye almacenamiento a temperatura ambiente y bajo condiciones aceleradas (7).

Las condiciones de estabilidad acelerada ordinariamente incluyen diferentes temperaturas (por ejemplo, 5°C, 50°C y 75°C); humedad, donde sea apropiado (por ejemplo, 75% o mayor), y la exposición a varias longitudes de onda de radiaciones electromagnéticas (7).

Es importante detectar, aislar e identificar los productos de degradación. Los productos de degradación deberán ser cuantificados para establecer las reacciones cinéticas, cuando sea practicable (7).

El estudio acelerado de las drogas se utiliza para identificar problemas de potencia que pudieran encontrarse durante el almacenamiento y transporte y para

proveer una estimación de la fecha de expiración (7).

D. Principios de cinética de degradación

La cinética de reacción o de las reacciones es el estudio de la velocidad de los cambios químicos y la forma en que dicha velocidad depende de condiciones de concentración de reactivos, productos y otras especies químicas que puedan estar presentes, de factores como solvente y temperatura (8).

La velocidad de una reacción es aquella a la que uno o más reactivos experimentan cambios químicos. El término orden de reacción indica la forma en que la concentración de un reactivo o varios influye en la velocidad de una reacción química (8).

Reacciones de orden cero. Cuando la velocidad de reacción es independiente de la concentración de la sustancia reactiva. En este tipo de reacción, el factor limitante no es la concentración, sino por ejemplo, solubilidad o reacciones fotoquímicas (9).

Reacciones de primer orden. Cuando la velocidad de reacción depende de la primera potencia de la concentración de un reactivo, se le considera de primer orden. En este tipo de reacción, la sustancia se descompone directamente en uno o más productos (9).

Reacciones de segundo orden. Si la velocidad de reacción depende de la concentración de dos reactivos, será de segundo orden (8).

Reacciones de pseudo-primer orden. Se puede definir como de segundo orden o reacción bimolecular que se comporta como reacción de primer orden. Esta se encuentra en el caso en que un reactivo está presente en exceso o se mantiene a una concentración constante comparada con el otro reactivo. En estas circunstancias, la velocidad de reacción se determina por un reactivo, a pesar de que dos están presentes, ya que el segundo reactivo no exhibe un cambio significativo en su concentración durante la reacción de degradación (9).

Reacciones de tercer orden. Una reacción de tercer orden es aquella en la cual la velocidad de reacción determinada experimentalmente es proporcional a la concentración de cada uno de tres reactivos o de uno de dos reactivos y la segunda potencia de la concentración del otro, o la tercera potencia de la concentración de un solo reactivo. Las reacciones de tercer orden son muy raras (8).

Para que la velocidad de degradación sea útil en la formulación de productos farmacéuticos, es necesario evaluar la dependencia de la temperatura en la reacción. Esto permite la predicción de la estabilidad del producto a temperatura ordinaria de almacenamiento con base en datos obtenidos por pruebas realizadas bajo condiciones exageradas. De acuerdo a las reglas, la velocidad de reacción se duplica por cada 10 grados de aumento en la temperatura, aunque no es generalmente aplicable. El

procedimiento que se recomienda es elaborar un plan de pruebas aceleradas para cada formulación para poder asegurar la dependencia de la temperatura de los cambios químicos en el producto que se está evaluando (9).

El método más satisfactorio para expresar la influencia de la temperatura en la velocidad de reacción es la relación cuantitativa propuesta por Arrhenius:

$$k = S e^{-H_a/RT} \quad (\text{formula 1})$$

donde k = velocidad de degradación

R = constante de los gases

T = temperatura absoluta

S = factor de frecuencia (9)

La constante de integración en la ecuación de Arrhenius se ha designado como factor de frecuencia. Este valor es la medida de la frecuencia de colisiones que pueden esperarse entre las moléculas de una reacción en específico. Logarítmicamente se puede expresar de la siguiente manera:

$$\ln k = -H_a/RT + \ln S \quad (\text{formula 2}) \quad (9)$$

Ya que la mayoría de preparaciones farmacéuticas son complejas, la reacción de degradación puede ser complicada por posible interacción de varios ingredientes en la formulación. Se vuelve impráctico y usualmente innecesario desarrollar estudios de cinética profundos en la formulación final para obtener una fecha de vencimiento estimada del producto. Usualmente es

suficiente seguir la degradación o alguna propiedad de la degradación como una función del tiempo a elevadas temperaturas; se usan las expresiones ya establecidas de cinética para luego extrapolar los datos a las condiciones de almacenamiento adecuadas y obtener la fecha estimada de expiración del producto en estudio (9).

E. Control de calidad de los radiofármacos

1. Controles comunes a medicamentos inyectables

Los controles de las condiciones comunes a todos los medicamentos y que se hacen extensivas a los radiofármacos, se realizan en general por los procedimientos habituales descritos en las farmacopeas (2).

Para efectos de este estudio se realizaron controles de características organolépticas (color, apariencia y partículas extrañas presentes en soluciones verdaderas).

2. Controles de las condiciones radiofarmacéuticas

Pureza Radioquímica: Es el porcentaje de actividad del radionucleido en la forma química establecida en relación con la actividad total de dicho radionucleido (1).

Para analizar la pureza radioquímica de un radiofármaco, los métodos utilizados son cromatografía y electroforesis. Sin embargo, estudios realizados anteriormente en la DGEN para la evaluación de la calidad

de los radiofármacos indicaron que la cromatografía de capa fina instantánea es el método más sensible y recomendado (1).

También se llevan a cabo controles de actividad específica, los cuales se realizan en un calibrador de dosis y se expresa en mCi/mL (1).

IV. MARCO METODOLOGICO

A. Objetivos

1. Objetivos generales

- a. Determinar la cinética de degradación de 8 radiofármacos en forma liofilizada.

2. Objetivos específicos

- a. Realizar pruebas de estabilidad acelerada de 8 radiofármacos en un intervalo de 3 meses.
- b. Determinar la temperatura adecuada de almacenamiento de los diferentes radiofármacos para su conservación.
- c. Establecer la estabilidad de los radiofármacos a su propia humedad relativa.
- d. Establecer la fecha de expiración y condiciones de almacenamiento para cada uno de los radiofármacos a estudiar.

B. Hipótesis

Los ocho radiofármacos liofilizados producidos en el laboratorio de Radiofarmacia de la DGEN, almacenados a 5°C (278°K), tienen una fecha de expiración mayor de un año.

C. Variables

1. Independientes: temperatura.
2. Dependientes: estabilidad.
3. Extrañas: humedad, luz, pH, formulación.

D. Población y muestra

1. Universo de trabajo

8 radiofármacos liofilizados marcados con ^{99m}Tc : DTPA, DMSA, MDP, MAA, GH-Ca, DISIDA, Pirofosfato para corazón y Pirofosfato para glóbulos rojos.

2. Muestra

16 muestras de cada uno de los 8 radiofármacos.

E. Procedimiento

1. Determinación de humedad (reactivo de Karl Fischer)

Este método de titulación de Karl Fischer, para la determinación de agua, se basa en que una solución de dióxido de azufre y yoduro en piridina y metanol reaccionen cuantitativamente con el agua (10).

Se agregaron aprox. 25 mL de metanol a un matraz de titulación, y se tituló hasta el punto final con el reactivo de Karl Fischer (10).

El punto final en la valoración es observado por la aparición de un ligero exceso del complejo yodo piridina cuando toda el agua fue consumida. La manera en que se detectó fue por su color pardo, el cual fue lo suficientemente intenso para un punto final visual (10).

Luego se pesó la muestra para que contuviera de preferencia de 10 a 50 mg de agua, y rápidamente se transfirió al matraz de destilación. Se agitó con fuerza y se volvió a titular con el reactivo de Karl Fischer. El contenido de agua en la muestra, en miligramos, fue el producto de $S \times F$, en el que S es el volumen, en mL, de reactivo que se utilizó para titular la muestra, y F es el factor equivalente de agua (10).

2. Determinación de actividad

La determinación de actividad se realizó con un calibrador de dosis.

3. Procedimiento de marcación

Después de medir la actividad del ^{99m}Tc en el calibrador de dosis se agregó, una cantidad en mL de eluido a cada envase o frasco de la parte química de los radiofármacos. Se esperó 10 minutos aproximadamente para que ocurriera la reacción.

4. Pureza radioquímica

Entre los materiales utilizados están: como soporte: el papel whatman No. 1, ITLC-cromatografía instantánea en capa fina de sílica gel, y como solventes:

solución de cloruro de sodio 0.9% acetona y metanol 85%.

Se colocó el solvente adecuado en la cámara cromatográfica hasta llegar a una altura de 1-2 cm del fondo del recipiente, se tapó y dejó saturar la cámara (1).

Se cortó el soporte en tiras de aprox. 1.0 cm de ancho por 12.0 cm de largo, se trazó una línea discontinua con lápiz de grafito a 1.0 cm de uno de los extremos y otra línea a 9.5 cm de la línea que marca el punto de aplicación (1).

Se sembró la muestra en la línea de origen tratando de no tocar la superficie. El área de la misma debe ser lo menor posible (máximo diámetro; 0.5 cm) (1).

Se colocó la tira cromatográfica en la cámara cuidando que el borde inferior quedara sumergido en el solvente y que el mismo no tocara el punto de aplicación (1).

Cuando el solvente llegó a la línea que marca el frente, se retiró la tira de la cámara y se secó (1).

Se midió el cromatograma cortando la tira en secciones de 1 cm comenzando desde 0.5 cm por debajo de la línea de aplicación de la muestra para luego medir cada uno de los segmentos en un contador de centelleo sólido. Determinando así el fondo del ambiente, Background (BG) (1).

El porcentaje de marcación o pureza radioquímica (%PR) se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\%P.R. = \frac{A_R}{A_R + A_{I1}} \quad \text{donde} \quad \text{(formula 3)}$$

%P.R. = porcentaje de pureza radioquímica.

A_R = actividad neta (considerando el BG del cromatograma) del radiofármaco.

A_{I1} = actividad neta (considerando el BG del cromatograma) de la impureza.

4. Pruebas estabilidad acelerada

Primeramente se realizaron controles iniciales de calidad (descritos anteriormente) para los 8 radiofármacos estudiados de un solo lote.

Luego se tomaron tres muestras de cada producto y se colocaron a 3 diferentes temperaturas: 5°C (278°K), 25°C (298°K) y 40°C (313°K) por tres meses; para los cuales se utilizaron una refrigeradora, a temperatura ambiente y un horno, respectivamente.

F. Diseño de investigación

Para poder estimar la fecha de expiración y condiciones de almacenamiento de los 8 radiofármacos estudiados, se procedió a realizar pruebas de estabilidad acelerada, durante tres meses y a tres diferentes temperaturas (5°C, 25°C y 40°C).

Se llevó a cabo un control inicial de calidad (tiempo 0) y luego cada 30 días.

Con estos datos se evaluó el comportamiento de la degradación de los radiofármacos como una función de la temperatura, se utilizaron expresiones de cinética para determinar el orden de reacción que siguieron los mismos, y luego se extrapolaron los datos bajo condiciones de almacenamiento deseadas (refrigeración) para obtener el tiempo de vida útil de los radiofármacos liofilizados.

G. Análisis estadístico

El método estadístico que se utilizó para el análisis de resultados fue el Análisis de Varianza por bloques.

Este método permitió determinar si hubo diferencia significativa entre dos variables: temperatura y tiempo de almacenamiento entre los radiofármacos para la estimación de la vida útil.

V. MARCO OPERATIVO

A. Recabación y tratamiento de datos

Se muestreó un lote de cada uno de los ocho radiofármacos una vez al mes, durante tres meses y en duplicado.

A los resultados de los análisis se les aplicó el método estadístico de Varianza por bloques.

B. Recursos

1. Recursos humanos

Responsable: Martha Elisa Sierra Ligorria

Asesor: Licda. Celestina Portillo de Palma

Colaboradores: Profesionales, personal y técnicos de la DGEN.

2. Recursos materiales

El material y equipo de electrónica nuclear que se utilizó fue proporcionado por el Laboratorio de Radiofarmacia de la DGEN, así como las instalaciones donde se hizo el estudio.

El titulador de Karl Fischer para la determinación de humedad fue proporcionado por la Compañía Farmacéutica Upjohn de Guatemala.

a. Equipo y Materiales

- Calibrador de dosis (CAPINTEC)
- Contador de pozo/centelleo sólido (ORTEC; Modelo 2000)
- Cuba de cromatografía
- Refrigerador
- Horno
- Jeringas y Agujas
- Gradillas
- Tijeras
- Tubos de ensayo de 7 cm de largo
- Contenedores de plomo
- Algodón
- Guantes desechables
- Pinzas
- Papel Whatman No. 1
- Papel ITLC SG (GELMAN SCIENCES)
- Titulador de Karl Fischer (METTLER DL 18)

b. Reactivos

- Eluido de tecnecio 99m metaestable (AMERSHAN)
- Acetona (MERCK)
- Metanol (MERCK)
- Cloruro de sodio
- reactivo de Karl Fischer

c. Mestras de radiofármacos

- Glucoheptonato de calcio (GH-Ca)
- Dietilentitriaminopentaacético-sal trisódica de sodio" (DTPA-CaNa₃,
- Pirofosfato de sodio para corazón
- Pirofosfato de sodio para marcar glóbulos rojos
- Acido diisopropil iminodiacético (DISIDA)
- Metilendifosfonato (MDP)
- Acido dimercaptosuccínico (DMSA)
- Macroagregados de albúmina (MAA)

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

El estudio de estabilidad acelerada evaluó la degradación cinética de los radiofármacos, permitiendo así dilucidar el mecanismo por el cual se efectuaron las reacciones químicas de los mismos.

Para ello se analizaron primeramente los datos de concentración versus tiempo de almacenamiento para cada radiofármaco en solvente NaCl, y se encontró que los compuestos presentaron un comportamiento de reacción de orden cero (como se puede visualizar en las gráficas No. 1 al 8). Lo que indica que la velocidad de reacción fue independiente de la concentración de uno o más reactivos presentes en los radiofármacos.

Una vez determinado el orden de reacción que presentaron estos compuestos, se utilizó la ecuación de Arrhenius (fórmula 1) para encontrar los tiempos de vida útil aproximados y la influencia de la temperatura en la degradación de los mismos. Ecuación que no tomó en cuenta la influencia de variables extrañas (humedad principalmente) para el análisis de este estudio.

Se presenta a continuación un análisis e interpretación de los resultados de los 8 radiofármacos estudiados en forma individual.

Se puede observar que para los Macroagregados (MAA) y DISIDA (en solvente metanol), (Tablas 10 y 11), los

tiempos de vida útil de los radiofármacos disminuyen al aumentar la temperatura y a su vez al aumentar el tiempo de almacenamiento. Esto se puede predecir al analizar las gráficas 13 y 14 de velocidad de degradación (k) versus temperatura absoluta ($^{\circ}\text{K}$), pues el patrón de comportamiento indica que a mayor temperatura, mayor velocidad de degradación, lo cual era de esperarse.

El análisis estadístico de varianza por bloques, a un nivel de confianza de 0.05, confirma el comportamiento anteriormente analizado para el caso individual del DISIDA (tabla 16). Este concluye que en efecto hay una diferencia significativa entre el tiempo de vida útil y las dos variables estudiadas: temperatura y tiempo de almacenamiento.

Sin embargo, el análisis de varianza para el radiofármaco MAA concluyó que sólo se presenta una diferencia significativa del tiempo de vida útil respecto del tiempo de almacenamiento y no al aumento de la temperatura.

Permitiendo una degradación del 10%, los dos radiofármacos anteriores obtuvieron tiempos de vida útil de 6.39 meses para los MAA y de 10.37 meses para el DISIDA a una temperatura de almacenamiento de 5°C (278°K) (refrigeración) (tablas 10 y 11).

Para el caso de los compuestos Pirofosfato para corazón (PIRO-CORAZON) y DTPA, en solvente NaCl, se observa tanto en las tablas 12 y 14 de resultados y en

las gráficas 11 y 12, de velocidad de degradación versus temperatura absoluta, que ambos se comportaron de igual forma que los dos discutidos anteriormente. Sin embargo, el análisis de varianza indica que no hubo una diferencia significativa entre el tiempo de vida útil y la temperatura y/o el tiempo de almacenamiento.

A pesar de este resultado, se sabe que la marcación fue satisfactoria, puesto que al tomar como control la corrida de la cromatografía del radiofármaco en el solvente acetona, se obtuvieron máximos de marcación (mayores de 90%) por la formación de un coloide, el cual se mantuvo constante a lo largo del tiempo. Esto permitió asegurar que la disminución en el porcentaje de marcación obtenidos en las cromatografías con el solvente NaCl se deben a la degradación propia del radiofármaco por la influencia de la temperatura y/o tiempo de almacenamiento (aunque no haya sido significativa) y no a una inadecuada detección.

Se calcularon tiempos de vida útil en refrigeración para PIRO-CORAZON y DTPA de 3.07 y 59 meses, respectivamente.

En lo que respecta a los radiofármacos Glucoheptonato (GH) y DMSA en solvente NaCl, se observa en las tablas de resultados (13 y 15) y en las gráficas 9 y 10, que el patrón de comportamiento no fue el esperado. Es decir, el tiempo de vida útil fue incrementando al aumentar la

temperatura, y la velocidad de degradación disminuyendo al aumentar la misma. Este comportamiento se pudo deber a que la gráfica de la curva de los valores de concentración versus tiempo de almacenamiento, no siguieron una reacción de orden cero, como se asumió. (ver gráficas 1 y 2).

Por lo tanto, se deduce que se debieron haber almacenado los radiofármacos por más tiempo para obtener mayor cantidad de datos para las gráficas y al tener mayor información acerca de las mismas, determinar con mayor seguridad el orden de reacción que pudieron presentar los compuestos.

Otro factor que pudo afectar al DMSA (más que al GH) fue el porcentaje de humedad inicial. Este fue de 6.3% (ver tabla 9) y se considera relativamente alto por tratarse de un radiofármaco liofilizado. La tabla 15 indica que a pesar que el tiempo de vida útil aumentó con la temperatura, se observó una disminución del mismo a lo largo del tiempo de almacenamiento. Con estos resultados se puede afirmar que a las temperaturas de 5°C 25°C y 40°C disminuyó la humedad presente inicialmente en los radiofármacos y con ello el tiempo de vida en una relación mayor al cambio que se dio a una temperatura de 5°C.

Por las dos razones anteriormente citadas, no se puede concluir un tiempo de vida útil para GH y DMSA.

Para los radiofármacos Pirofosfato-globulos rojos y

MDP en NaCl no se pudo calcular la velocidad de degradación y, por consiguiente, estimar el tiempo de vida útil de los mismos. Se obtuvieron valores de concentración final (C_f) más grandes que la concentración inicial (C_0). Esto daba lugar a valores numéricos negativos de velocidad de degradación (k), por lo que no se pudo aplicar la fórmula 4.

Se cree que este comportamiento se debe a todos los variables extrañas que intervinieron en este estudio. Estas se presentan a continuación y se generalizan a su vez para todos los radiofármacos. Ya que de una u otra manera influyeron en la estabilidad del producto y, por consiguiente, en la estimación del tiempo de vida útil de los mismos.

El factor principal en la determinación fue contar solamente con 3 mediciones de concentración a 3 diferentes temperaturas por 3 meses (las que se realizaron una cada mes). Por el comportamiento que siguieron los radiofármacos en las gráficas 1 al 8, se asumió que la degradación cinética de todos los compuestos se llevaron a cabo por una reacción de cero orden.

Sin embargo, con un mayor número de mediciones se hubiera podido observar y dar mayor seguridad de que los radiofármacos siguieron únicamente una degradación de orden cero. O bien demostrar que durante el periodo de

estudio, al inicio presentaban este comportamiento y se fueron transformando en una reacción de primero o segundo orden por la influencia de la temperatura.

Pero debido al alto costo de las muestras de los radiofármacos este trabajo de investigación no se pudo llevar a cabo por más tiempo.

Otro factor importante de mencionar es que tanto las temperaturas (5°C, 25°C y 40°C), como el tiempo de almacenamiento (3 meses) a que se sometieron los compuestos no fue crítica y significativa para su degradación. Lo que se confirma observando el análisis estadístico de varianza por bloques (tablas 16 a 21) el cual concluye que no existe una diferencia significativa del tiempo de vida útil entre las dos variables estudiadas. A excepción del radiofármaco DISIDA y MAA.

A pesar que los compuestos utilizados son liofilizados, éstos presentaron, inicialmente, un porcentaje de humedad (tabla 9). Este porcentaje va cambiando por el aumento de la temperatura, provocando que los valores de concentración a diferentes temperaturas sean menores por la pérdida de humedad y no por la degradación propia de la sustancia.

Para efectos de dicho estudio se asumió que la humedad se mantuvo constante, ya que los envases fueron herméticamente sellados, y su producto liofilizado. Aunque no debe descartarse la posibilidad de un defecto en el cierre de los envases.

Por último cabe mencionar que no se analizaron factores externos, tales como: luz (para los radiofármacos fotosensibles), errores en la formulación, influencia de pH, oxigenación, técnicas de muestreo y factores indeterminados propios del método pero que influyeron en dicha investigación.

Para todas las corridas de cromatografía ITLC-SG se usó como patrón el solvente acetona. En éste se obtiene un máximo de marcación y permitió asegurar que no hubo fallas en el método de detección.

VII. CONCLUSIONES

- A. De acuerdo a las gráficas No.1 al 8, la degradación cinética de los 8 radiofármacos se llevó a cabo como una reacción de cero orden.
- B. El análisis de varianza por bloques a un nivel de confianza de 0.05 concluye para el radiofármaco DISIDA, que hay una diferencia significativa del tiempo de vida útil si se almacena el compuesto a 3 diferentes temperaturas (5°C, 25°C, 40°C) y si se almacena por uno, dos y tres meses.
- C. El radiofármaco DISIDA tiene una fecha de expiración estimada de 10.37 meses almacenándolo a una temperatura de 5°C, permitiendo que se degrade sólo el 10%.
- D. El análisis de varianza a un nivel de confianza de 0.05 para el radiofármaco MAA concluye que existe una diferencia significativa entre el tiempo de vida útil y el tiempo de almacenamiento del mismo.
- E. El radiofármaco MAA tiene una fecha de expiración estimada de 6.39 meses almacenándolo a 5°C, permitiendo que se degrade sólo un 10%.
- F. El análisis de varianza a un nivel de confianza de 0.05 demostró para los radiofármacos Pirofosfato para corazón, MDF, Glucoheptonato, DTPA, DMSA y Pirofosfato para glóbulos rojos; que no existe diferencia

significativa entre tiempo de vida útil y la temperatura y/o el tiempo de almacenamiento de los mismos.

G. La humedad es un factor crítico en la determinación del tiempo de vida útil de los radiofármacos liofilizados.

H. El pH, oxígeno, formulación, luz y las técnicas de muestreo son factores que influyen en la estabilidad de los radiofármacos.

VIII. RECOMENDACIONES

- A. Realizar este estudio por un período de tiempo de aproximadamente 8 meses para obtener mayor información acerca del comportamiento del orden de reacción que siguen los radiofármacos.
- B. Realizar el estudio de estabilidad acelerada a temperaturas mayores que las estudiadas para conocer el comportamiento y degradación crítica de los radiofármacos.
- C. Controlar la humedad presente en los radiofármacos a lo largo de todo el análisis.
- D. No comercializar estos productos hasta no contar con una fecha de expiración confiable.
- E. Realizar mayor número de réplicas de los análisis para poder obtener un promedio más real de los resultados.
- F. Asegurar el porcentaje de humedad inicial mínimo en el proceso de liofilización de los radiofármacos.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. Portillo, C. Comparación de dos Métodos de Producción de Radiofármacos y Evaluación de su Calidad. USAC. Guatemala. (1987). 111 pp.
2. Helman, J. Farmacotecnia Teórica y Práctica. Tomo VII. 1era. Edición. Compañía Editorial Continental, S.A., México. (1981). 2624 pp.
3. Producción Radiofármacos. Dirección General de Energía Nuclear (DGEN)/Ministerio de Energía y Minas.
4. Helman, J. Farmacotecnia Teórica y Práctica. Tomo VIII. 1era. Edición. Compañía Editorial Continental, S.A., México. (1981).
5. Johnson, C. Apuntes sobre Determinación de la Humedad y su significado en la Práctica Farmacéutica. Advances in Pharmaceutical Sciences (1967). 1-19 pp.
6. Santich, I. (ed). Buenas Prácticas de Manufactura. Inspección y Auditoría. Curso Teórico-Práctico. Vol I. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Registros de la Organización Mundial de la Salud (OMS).
7. Guideline for Submitting Documentation for the Stability of Human Drugs and Biologics. Food and Drug Administration (FDA), Department of Health and Human Services. February 1987. 56 pp.

8. Martin, R. (ed) Remington's Pharmaceutical Sciences. 17th Edition. Mack Publishing Company. Pennsylvania. (1985).
9. Lachman, L. et.al. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy. 2nd Edition. Prentice-Hall, USA. (1976).
10. The United States Pharmacopeia (USP). 16th Edition. United States Pharmacopeial Convention, Inc. (1985).
11. Mendenhall, etl.al. Estadística Matemática con Aplicaciones. 3era. Edición. Grupo Editorial Iberoamerica, S.A. de C.V. México. (1986). 751 pp.
12. Montes, C. Reformulación y Liofilización de S^o Marcado con ^{99m}Tc para Estudios Centellográficos USAC. Guatemala. (1992). 65 pp.
13. Snedecor, G. y W. Cochran. Statistical Methods. Sixth edition. The Iowa State University Press. U.S.A. (1979). 593 pp.

A P E N D I C E

APENDICE A

1. MODELO DE CALCULOS OPERATIVOS
2. MODELO DE CALCULOS ESTADISTICOS

1. MODELO DE CALCULOS OPERATIVOS

A. Determinacion porcentaje de pureza radioquimica:

$$\frac{Ar}{Ar + Ai} * 100 \quad (\text{formula 3})$$

Ar: actividad neta del radiofarmaco

Ai: actividad neta de la impureza

Ejemplo: Radiofarmaco MAA

$$\frac{77883}{77883 + 1791} * 100 = 97.75\%$$

B. Calculo velocidad de degradacion (k):

$$k = \frac{Co - Cf}{t} \quad (\text{formula 4})$$

Cf: concentracion final

Co: concentracion inicial

t: tiempo en meses

Ejemplo: $\frac{97.75 - 96.64}{1 \text{ (mes)}} = 1.11 \text{ a } 5^{\circ}\text{C}$

C. Regresion lineal (lnk vs 1/Temp):

1 mes	
Temp K	Ln k
278	0.27
298	-0.48
313	0.96

Constante	4.79
Desviacion y	0.94
R cuadrado	0.14
No. observaciones	3
Grados de libertad	1
Coefficiente x	-1341.7
Desviacion coef. x	1338.12

Ecuacion de la recta:

$$y = mx + b$$

$$\text{Lnk} = (-1341.7 \pm 3297.62) * (1/\text{Temp}) + (4.79 \pm 0.94)$$

E. Valor de k por extrapolacion a 278 K:

	k	Desv.min.k
k	-0.036	12.23
Ln k	0.9645	2.03 exp(5)

F. Tiempo de vida util y tiempo minimo:

$$t = \frac{10}{k} \quad (\text{formula 5})$$

Ejemplo:

$$t = \frac{10}{0.9645} = 6.12 \text{ meses a } 5^{\circ}\text{C}$$

2. MODELO DE CALCULO ESTADISTICO

ANALISIS DE VARIANZA POR BLOQUES

Hipotesis nula H_0 : No existe diferencia entre las medias de los distintos grupos

Clave: SC_t = suma total de cuadrados
 SC_f = suma de cuadrados por filas -tiempo almacenamiento-
 SC_c = suma de cuadrados por columnas -temperaturas
 SC_e = suma de cuadrados de los errores
 CM_f = cuadrados medios de las filas (tiempo almacenamiento)
 CM_c = cuadrados medios de las columnas (temperaturas)
 F_f = razon varianza de las filas (tiempo almacenamiento) entre varianza de los errores CM_f/CM_e
 F_c = razon varianza de las columnas (temperaturas) entre varianza de los errores CM_c/CM_e
 gl = grados de libertad

Tabla No. 22

Valores de tiempos de vida util de 3 temperaturas por 3 tiempos de almacenamiento en meses

DISIDA (metanol)

Tiempo (meses)	Temperaturas			suma por filas	cuadrados tiempo vida util		
	278°K	298°K	313°K		278°K	298°K	313°K
1	10.37	7.50	6.04	23.91	107.50	56.24	36.53
2	8.62	6.79	5.79	21.19	74.30	46.06	33.49
3	4.10	2.64	1.97	8.70	16.77	6.97	3.88
suma col	23.08	16.93	13.80	53.81	198.57	109.26	73.89

Origen de la variacion	gl	SC	CM	F	F (95%)
Filas(tiempo almacen.)	2.00	43.85	21.92	67.44	6.94
Columnas(temperaturas)	2.00	14.87	7.44	22.88	6.94
Error	4.00	1.30	0.33		
Total	8.00	60.02			

CONCLUSION

$F_f > F(95\%)$ = Se rechaza la H_0 , Si hay diferencia significativa

$F_c > F(95\%)$ = Se rechaza H_0 , Si hay diferencia significativa

APENDICE B

TABLAS

1. DATOS
2. RESULTADOS OPERATIVOS
3. RESULTADOS ESTADISTICOS

1. DATOS

TABLA No. 1

PROMEDIOS PORCENTAJES DE MARCACION
Radiofarmaco: Glucoheptonato

Solvente: acetona			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	99.51	99.51	99.51
1	99.57	96.17	99.53
2	95.33	97.96	95.69
3	96.17	92.17	98.89

Solvente: NaCl			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	91.51	91.51	91.51
1	89.39	33.14	88.48
2	84.68	89.64	90.06
3	31.54	30.00	92.57

TABLA No. 2

PROMEDIOS PORCENTAJES DE MARCACION
Radiofarmaco: DMSA

Solvente: acetona			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	99.56	99.56	99.56
1	99.78	98.30	98.59
2	93.48	97.87	94.42
3	95.52	96.06	98.66

Solvente: NaCl			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	78.95	78.95	78.95
1	64.21	76.61	81.73
2	62.45	60.27	72.54
3	34.03	54.35	48.58

TABLA No. 3

PROMEDIOS PORCENTAJES DE MARCACION
Radiofarmaco: DTPA

Solvente: acetona			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	99.48	99.48	99.48
1	98.72	99.04	99.52
2	92.63	95.23	90.17
3	96.16	90.90	99.66

Solvente: NaCl			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	97.79	97.79	97.79
1	98.29	97.62	98.59
2	97.44	96.38	93.28
3	95.62	54.51	96.19

TABLA No. 4

PROMEDIOS PORCENTAJES DE MARCACION
Radiofarmaco: Pirofosfato Globulos Rojos

Solvente: acetona			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	99.63	99.63	99.63
1	96.50	97.88	99.57
2	96.40	97.00	91.94
3	95.37	96.49	99.64

Solvente: NaCl			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	90.63	90.63	90.63
1	97.07	96.26	94.83
2	96.65	94.75	86.73
3	93.78	63.10	87.90

TABLA No. 5

PROMEDIOS PORCENTAJES DE MARCACION
Radiofarmaco: Pirofosfato para Corazon

Solvente: acetona			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	99.15	99.15	99.15
1	98.55	98.30	99.31
2	97.15	94.50	86.21
3	94.62	93.99	98.88

Solvente: NaCl			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	74.00	74.00	74.00
1	70.24	61.00	0.00
2	58.32	51.42	34.92
3	61.27	45.29	51.03

TABLA No. 6

PROMEDIOS PORCENTAJES DE MARCACION
Radiofarmaco: MDP

Solvente: acetona			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	99.89	99.89	99.89
1	99.60	99.67	99.75
2	99.10	94.50	94.83
3	95.70	95.36	99.87

Solvente: NaCl			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	92.66	92.66	92.66
1	95.79	96.05	95.78
2	95.08	88.10	93.24
3	94.26	63.24	91.55

TABLA No. 7

PROMEDIO PORCENTAJES DE MARCACION
Radiofarmaco: DISIDA

Solvente: metanol			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	97.75	97.75	97.75
1	96.44	97.13	95.13
2	95.24	95.33	93.86
3	91.28	82.24	85.11

TABLA No. 8

PROMEDIO PORCENTAJES DE MARCACION
Radiofarmaco: Macroagregados

Solvente: metanol			
TIEMPO (meses)	TEMPERATURA		
	5°C	25°C	40°C
0	97.19	97.19	97.19
1	94.45	96.77	93.01
2	91.44	92.82	32.75
3	84.10	87.80	0.00

Tabla No. 9

PORCENTAJES DE HUMEDAD

Radiofarmaco	Humeda
GH	0.94%
DMSA	6.31%
DTPA	8.68%
MDP	7.45%
DISIDA	7.31%
MAA	1.79%
PIRO-CORAZON	9.18%
PIRO-GR	2.93%

2. RESULTADOS OPERATIVOS

Valores de velocidad de degradación (k) y tiempo de vida útil para los 8 radiofarmacos

Clave: t_1 = tiempo de vida útil en el cual el radiofarmaco se deteriora en un 10% de su concentración inicial.

k = velocidad de degradación (meses⁻¹)

Tabla No. 10

Radiofarmaco: MAA

Solvente: metanol

Temperatura	1 mes		2 meses		3 meses	
	k	t ₁	k	t ₁	k	t ₁
278 K	1.57	6.39	1.83	5.47	2.91	3.43
298 K	1.70	5.87	6.80	1.47	8.59	1.16
313 K	1.80	5.54	16.31	0.61	17.67	0.57

Tabla No. 11

Radiofarmaco: DISIDA

Solvente: metanol

Temperatura	1 mes		2 meses		3 meses	
	k	t ₁	k	t ₁	k	t ₁
278 K	0.96	10.37	1.16	8.62	2.44	4.10
298 K	1.33	7.50	1.47	6.79	3.79	2.64
313 K	1.65	6.04	1.73	5.79	5.08	1.97

Tabla No. 12

Radiofarmaco: PIROFOSFATO CORAZON

Solvente: NaCl

Temperatura	1 mes		2 meses		3 meses	
	k	t1	k	t1	k	t1
278 K	3.26	3.07	7.47	1.34	4.79	2.09
298 K	18.64	0.54	12.74	0.79	7.08	1.41
313 K	59.61	0.17	18.17	0.55	9.18	1.09

Tabla No. 13

Radiofarmaco: GH

Solvente: NaCl

Temperatura	1 mes		2 meses	
	k	t1	k	t1
278 K	4.79	2.09	3.10	3.22
298 K	7.59	1.32	1.19	8.41
313 K	10.31	0.97	0.63	15.93

Tabla No. 14

Radiofarmaco: DTPA

Solvente: NaCl

Temperatura	2 meses		3 meses	
	k	t1	k	t1
278 K	0.17	59.29	1.67	5.60
298 K	0.77	12.93	1.79	5.60
313 K	2.13	4.69	1.87	5.35

Tabla No. 15

Radiofarmaco: DMSA

Solvente: NaCl

Temperatura	2 meses		3 meses	
	k	t1	k	t1
278 K	9.90	1.01	13.59	0.74
298 K	5.93	1.69	10.44	0.96
313 K	4.21	2.37	8.76	1.14

3. RESULTADOS ESTADISTICOS

Clave: F_c = distribución F de Snedecor para columnas
(temperaturas)

F_f = distribución F de Snedecor para las filas
(tiempo almacenamiento)

$F_t(0.05)$ = distribución teórica de Snedecor con un nivel de
confianza de 0.05

$F_c > o < F_t$ = Si/No hay diferencia significativa entre
el tiempo de vida útil y las temperaturas.

$F_f > o < F_t$ = Si/No hay diferencia entre
el tiempo de vida útil y el tiempo de almacenamiento

Tabla No. 16

Radiofarmaco: DISIDA

Solvente: metanol

	gl	F	F_t	Resultado
F_f -tiempo almacen	2	67.44	6.94	$F_f > F_{ft}$ SI hay dif.
F_c -temperatura	2	22.88	6.94	$F_c > F_{tc}$ SI hay dif.

Tabla No. 17

Radiofarmaco: MAA

Solvente: metanol

	gl	F	F_t	Resultado
F_f -tiempo almacen	2	12.63	6.94	$F_f > F_{ft}$ SI hay dif.
F_c -temperatura	2	5.73	6.94	$F_c < F_{tc}$ NO hay dif.

Tabla No. 18

Radiofarmaco: PIROFOSFATO CORAZON

Solvente: NaCl

	gl	F	F_t	Resultado
F_f -tiempo almacen	2	0.71	6.94	$F_f < F_{ft}$ NO hay dif.
F_c -temperatura	2	4.75	6.94	$F_c < F_{tc}$ NO hay dif.

Tabla No. 19

Radiofarmaco: DMSA
Solvente: NaCl

	gl	F	Ft	Resultado
Ff-tiempo almacen	1	10.91	10.13	Ff>Ftf SI hay dif.
Fc-temperatura	2	5.12	9.55	Fc<Ftc NO hay dif.

Tabla No. 20

Radiofarmaco: DTPA
Solvente: NaCl

	gl	F	Ft	Resultado
Ff-tiempo almacen	1	2.7	10.13	Ff<Ftf NO hay dif.
Fc-temperatura	2	1.57	9.55	Fc<Ftc NO hay dif.

Tabla No. 21

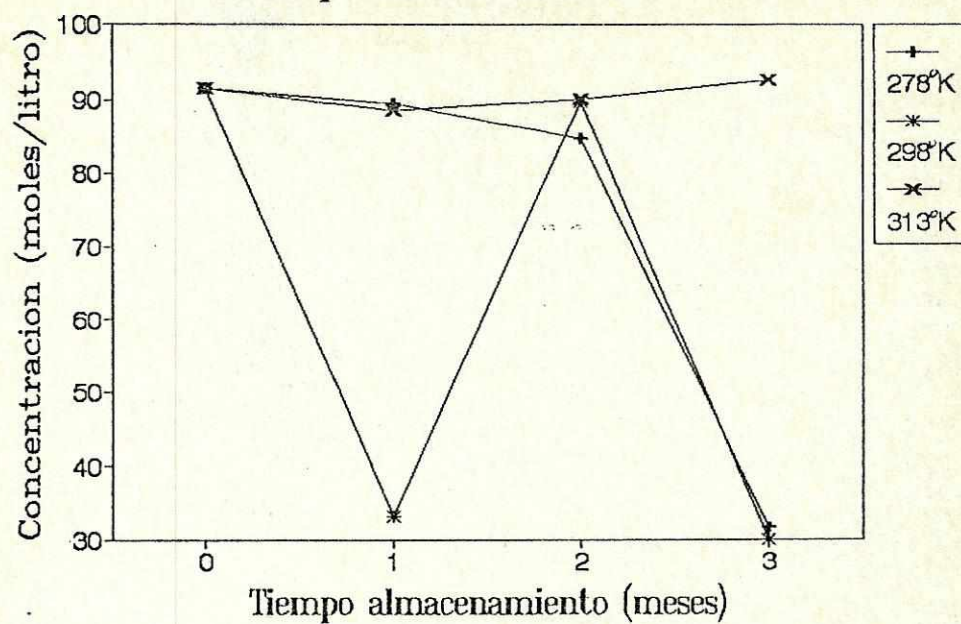
Radiofarmaco: GH
Solvente: NaCl

	gl	F	Ft	Resultado
Ff-tiempo almacen	1	5.59	10.13	Ff<Ftf NO hay dif.
Fc-temperatura	2	1.07	9.55	Fc<Ftc NO hay dif.

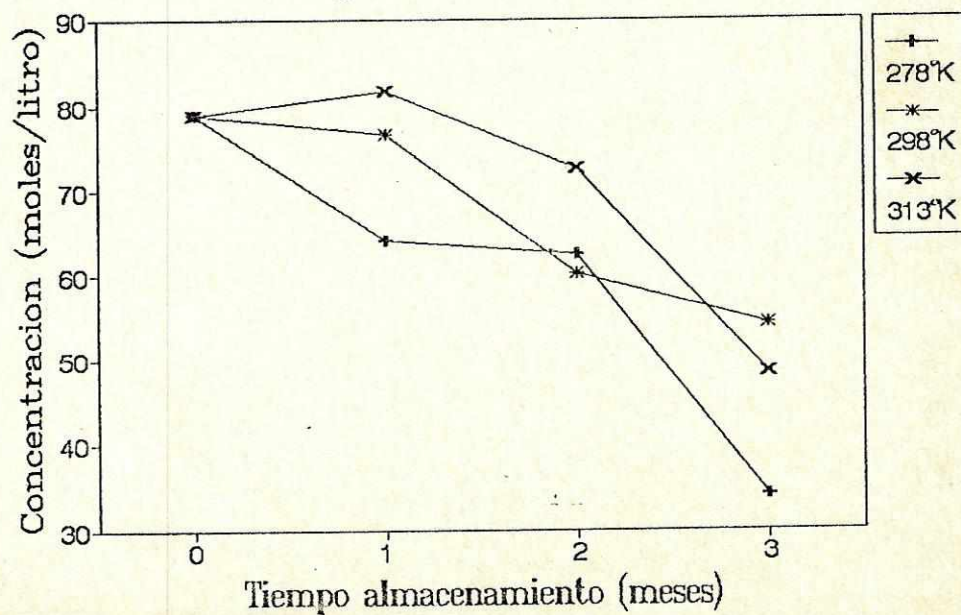
APENDICE C

GRAFICAS

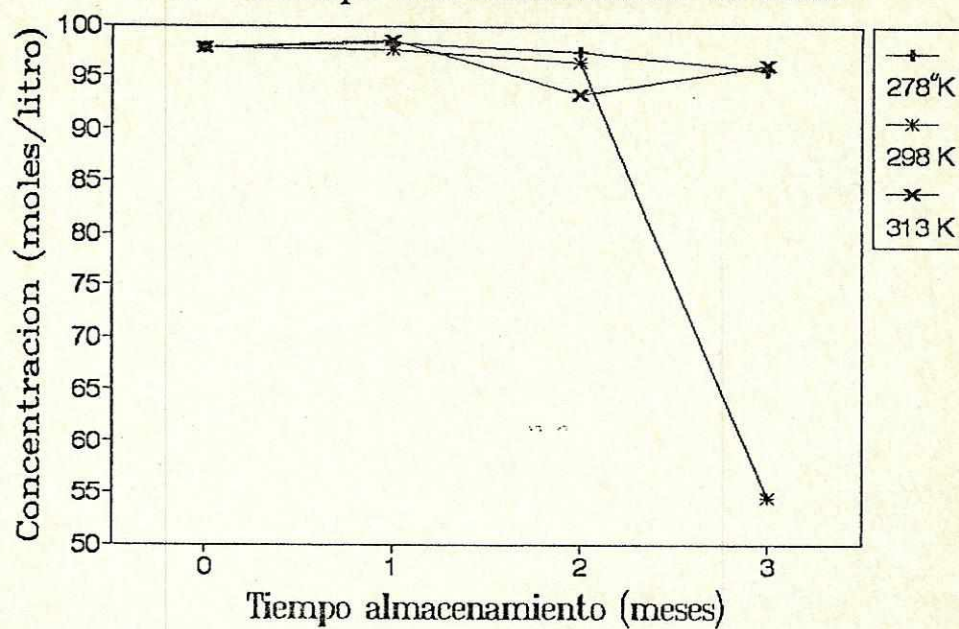
Grafica No. 1
GH - Tiempo almacenamiento vs conc.



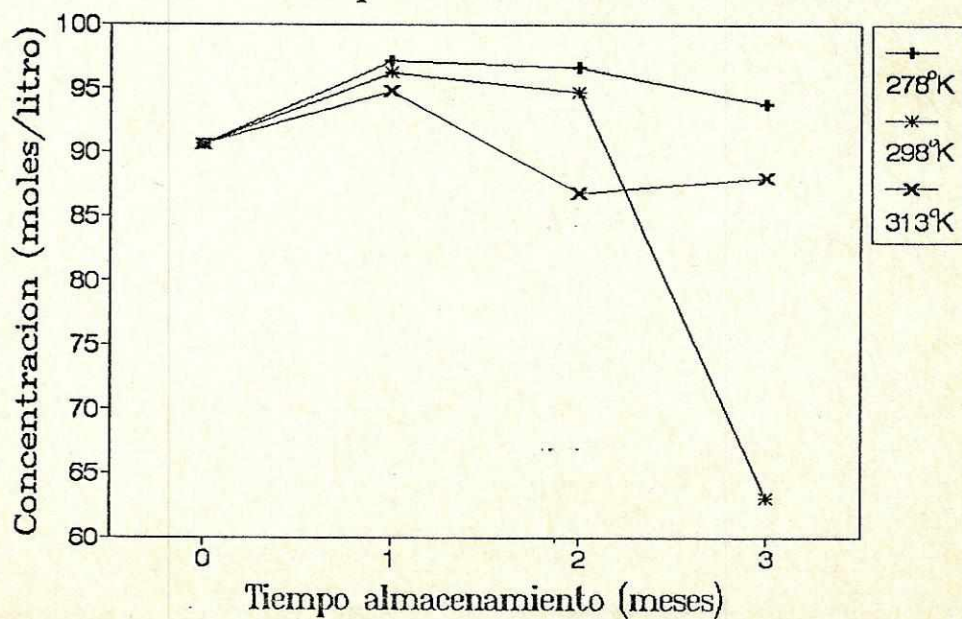
Grafica No. 2
DMSA - Tiempo almacenamiento vs conc.



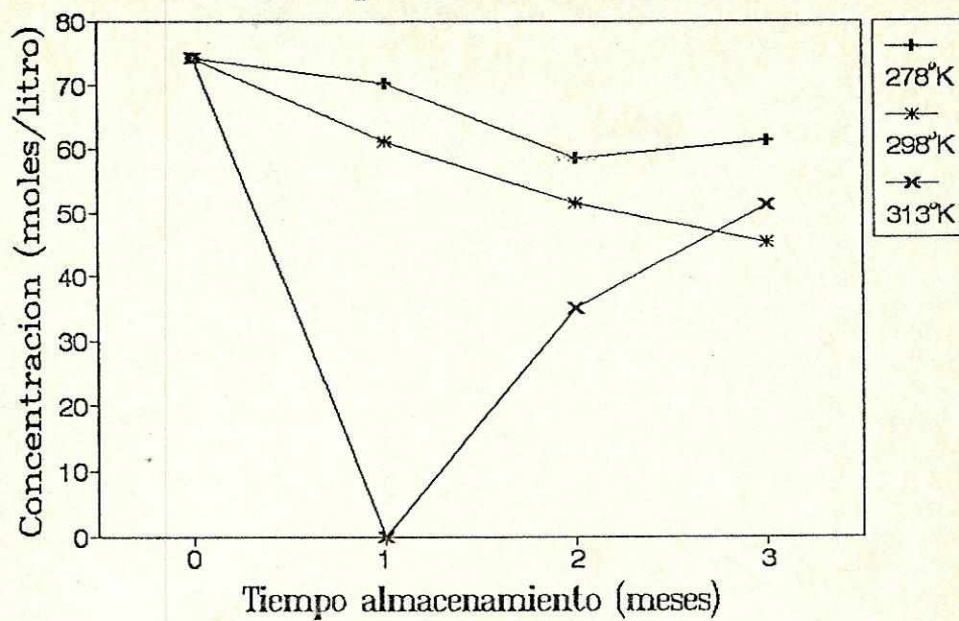
Grafica No. 3
DTPA - Tiempo almacenamiento vs conc.



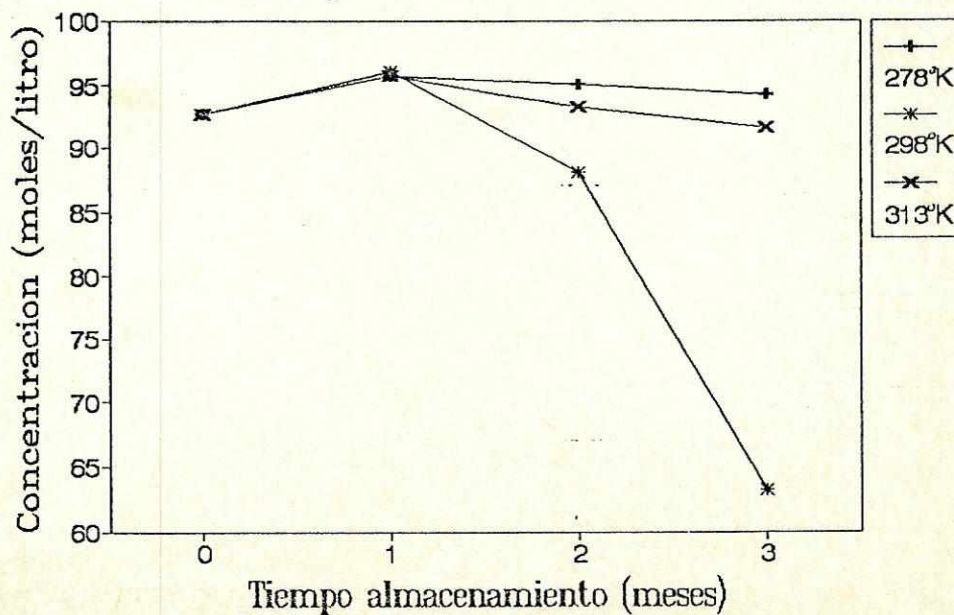
Grafica No. 4
PIROGR - Tiempo almacenamiento vs conc.



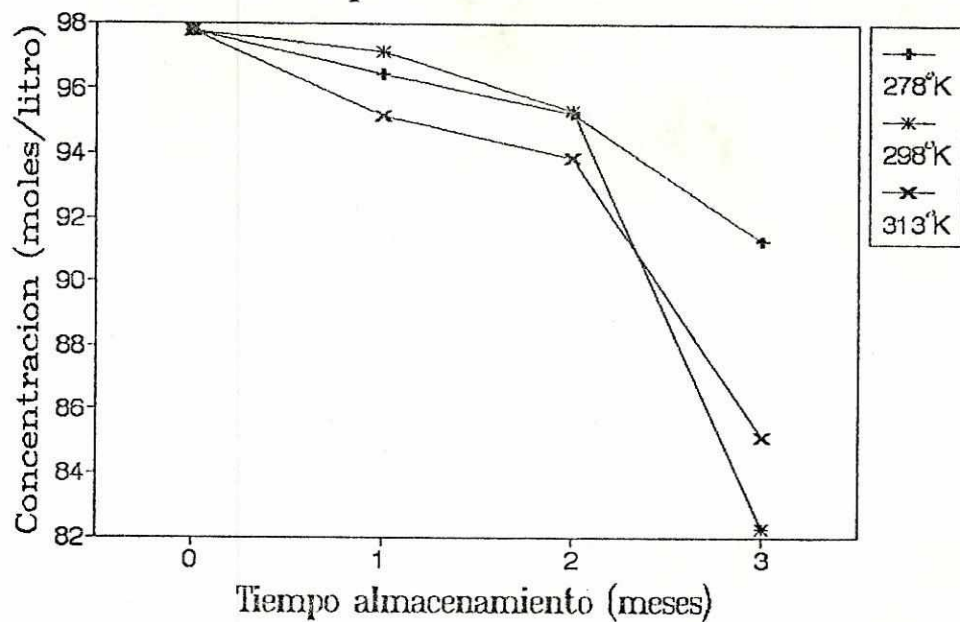
Grafica No. 5
PIROCOR- Tiempo almacenamiento vs conc.



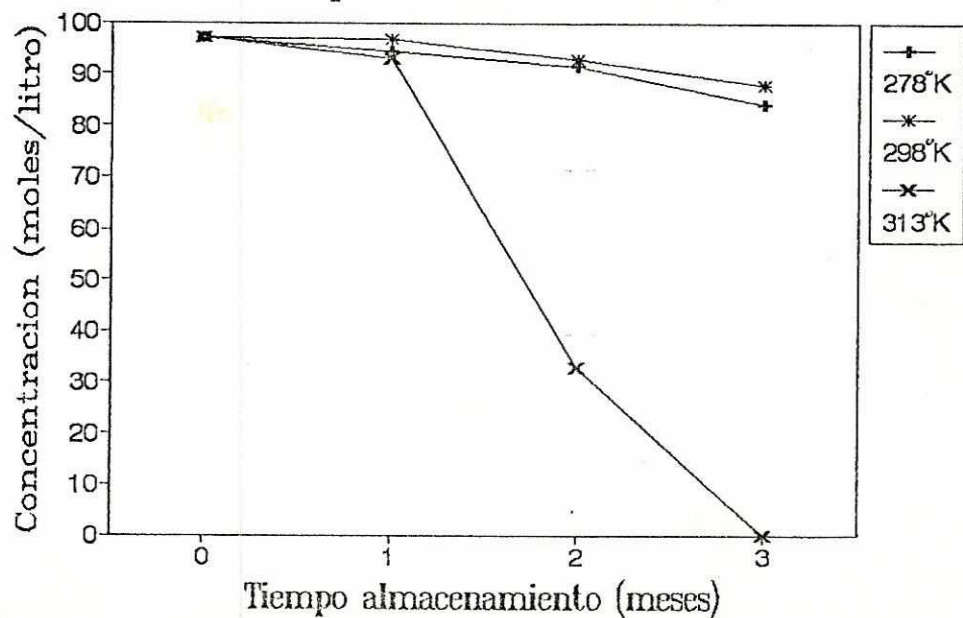
Grafica No. 6
MDP - Tiempo almacenamiento vs conc.



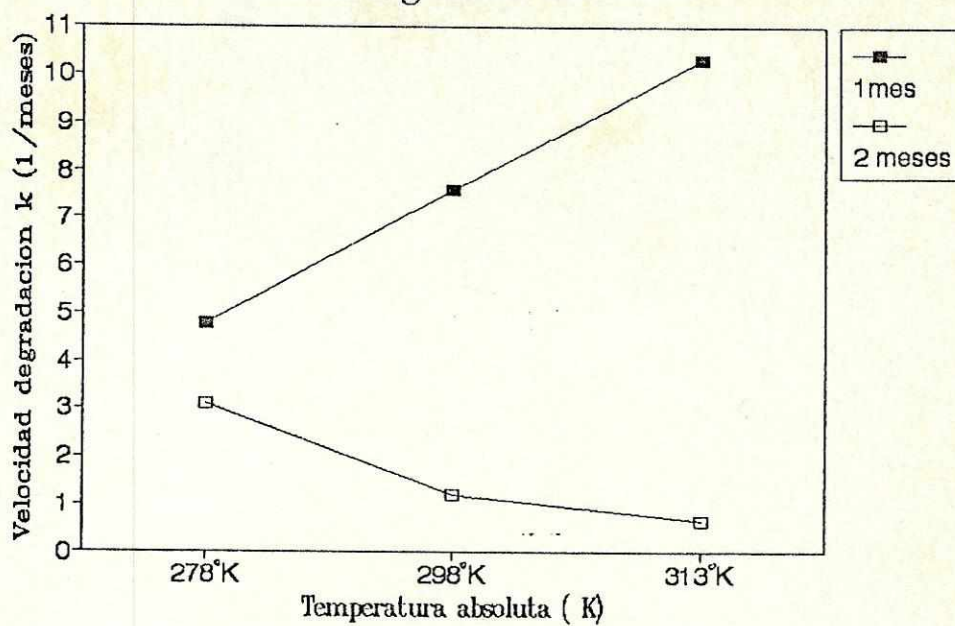
Grafica No. 7
DISIDA - Tiempo almacenamiento vs conc.



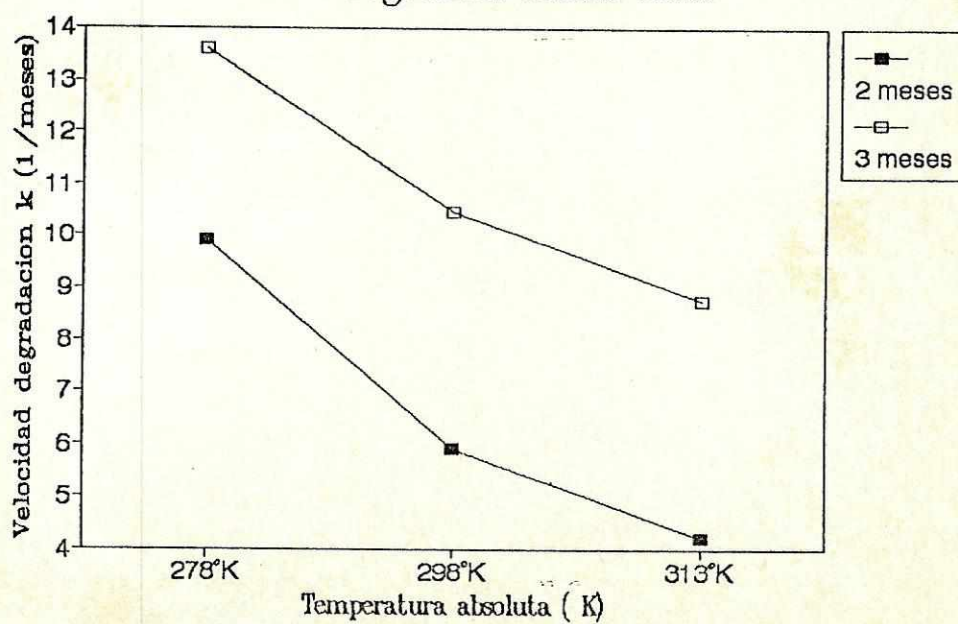
Grafica No. 8
MAA - Tiempo almacenamiento vs conc.



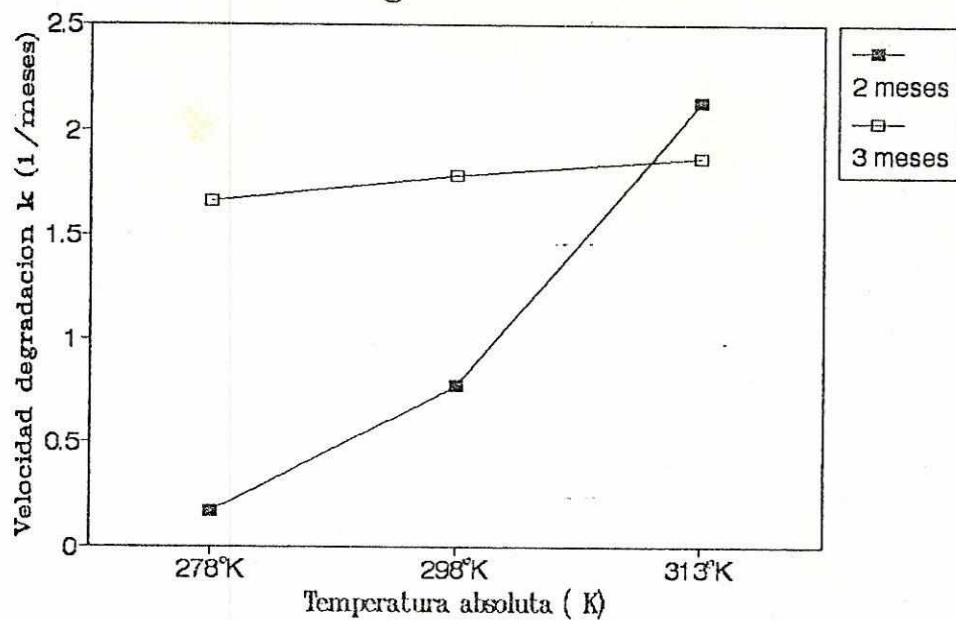
Grafica No. 9
Recta regresion GH-NaCl



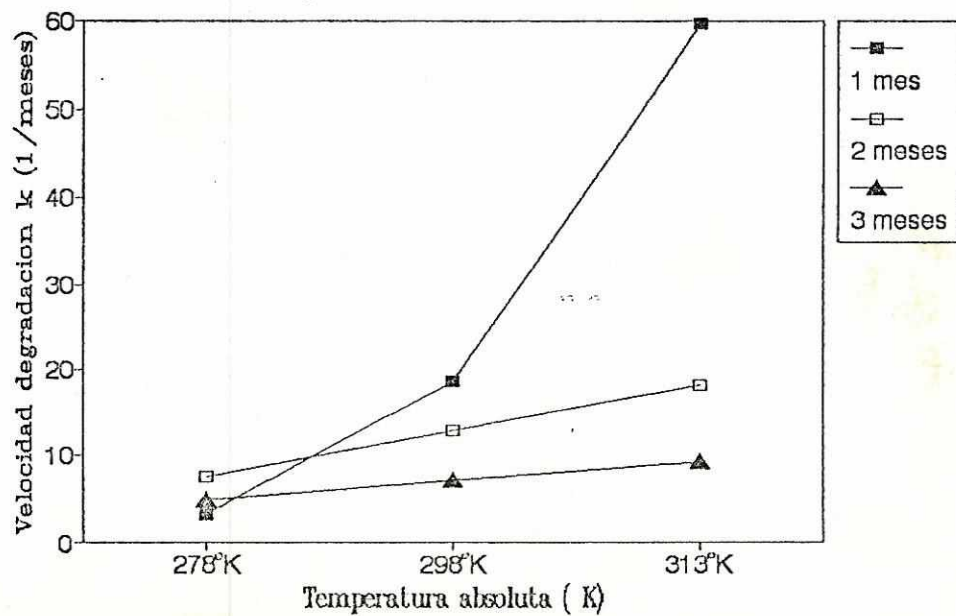
Grafica No. 10
Recta regresion DMSA-NaCl



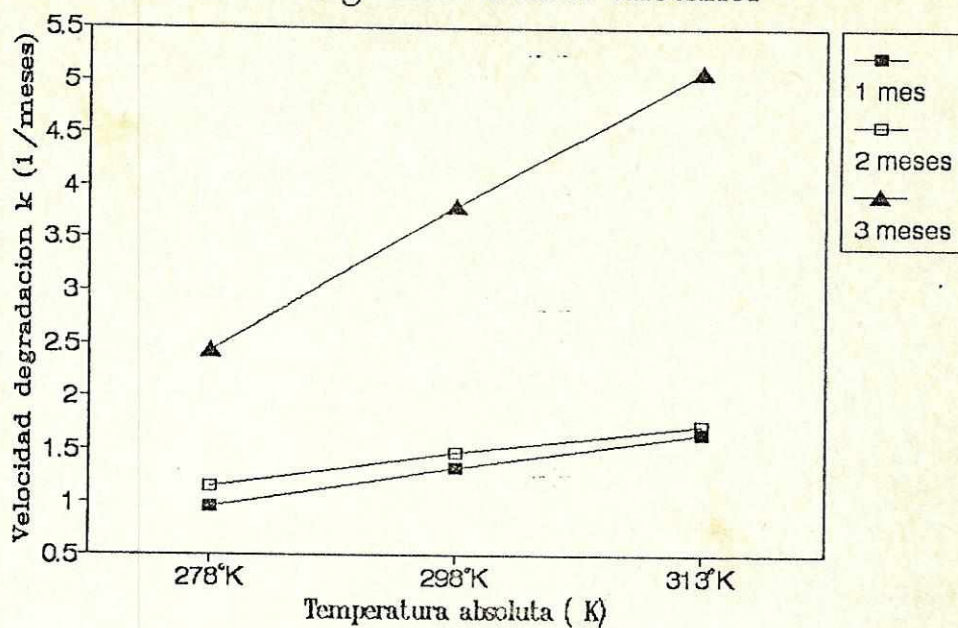
Grafica No. 11
Recta regresion DTPA-NaCl



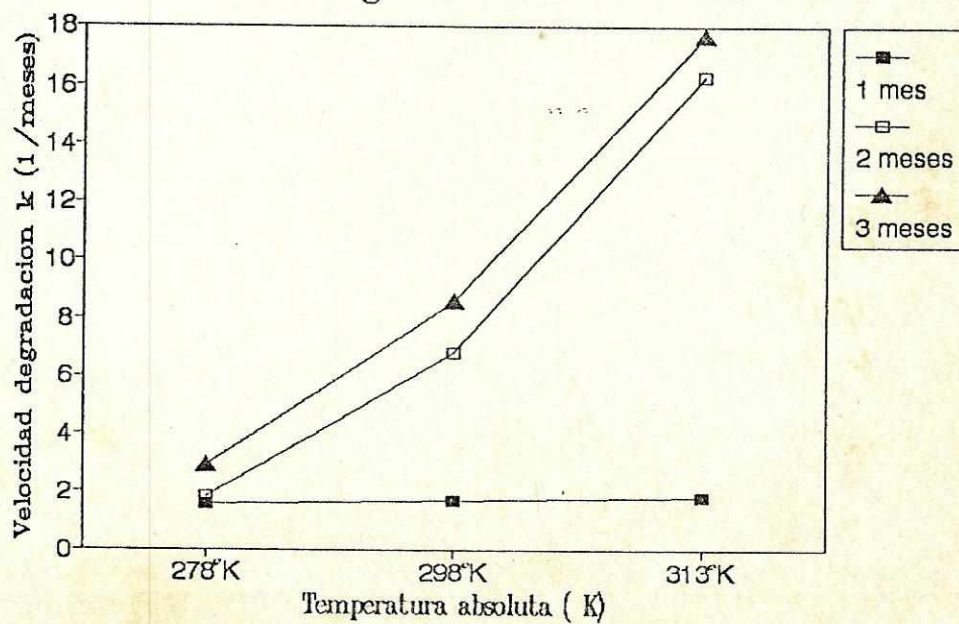
Grafica No. 12
Recta regresion PIRO-CORAZON-NaCl



Grafica No. 13
Recta regresion DISIDA-metanol



Grafica No. 14
Recta regresion MAA-metanol



APENDICE D

FORMULACIONES DE LOS RADIOFARMACOS

Formulaciones de los radiofármacos

(para 100 frascos)

1. Glucoheptonato de calcio (GH-Ca) (3)

Solución A: Disolver 10.0 g de GH-Ca en 95.0 mL de NaCl 0.9%. Se calienta con agitación magnética hasta que pase de aspecto lechoso a transparente.

Solución B: Mezclar 50.0 mg de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ con 0.5 mL de HCl concentrado, burbujear con nitrógeno.

Preparación: Agregar la solución (soln) B a la soln. A.

Verificar pH = 5.0

Filtrar en filtros Millipore de 0.22 u de porosidad.

Fraccionar 1.0 mL en cada frasco.

Liofilizar.

2. Dietilentriaminopentaacético-sal trisódica de sodio (DTPA- CaNa_3) (3)

Parte A: Pesar 250.0 mg de DTPA.

Solución B: Disolver 125.0 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 1.03 mL de HCl. Aforar a 62.5 mL de agua bidestilada. Nitrogenar.

Preparación: Agregar 5.0 mL de la solución B a la parte A.

Agregar 78.75 mL de NaCl 0.9%

Nitrogenar.

Llevar a pH=4 y nitrogenar.

Completar a 100.0 mL de NaCl 0.9% y nitrogenar.

Filtrar en filtros Millipore de 0.22 u de porosidad.

Fraccionar 1.0 mL en cada frasco.

Liofilizar.

3. Pirofosfato de Sodio para corazón (Piro) (3)

Solución A: Disolver 300.0 mg de pirofosfato de sodio en 100.0 mL de agua destilada apirógena.

Solución B: Disolver 300.0 mg de cloruro de estaño en 3.33 mL de HCl 10N.

Solución C: Preparar una solución de NaOH 4N.

Preparación: Nitrogenar solución A durante 10-15 minutos.

Añadir lentamente a la solución A, 1.0 mL de solución B y nitrogenar durante la preparación.

Fijar el pH=3.1 lentamente.

Dejar reposar durante 5 minutos.

Llevar pH=5.1 con solución C gota a gota.

Filtrar en filtros Millipore de 0.22 u de porosidad y fraccionar 1.0 ml por frasco.

4. Acido diisopropil-iminodiacético (DISIDA) (3)

Solución A: Disolver 2.5 g de IDA en 50.0 mL de NaOH 0.25N. Si no se disuelve completamente, agitar en caliente y agregar 5 gotas de NaOH 5N. Nitrogenar durante 20 minutos. Agregar 62.5 mL de agua bidestilada.

Solución B: Disolver 62.5 mg de cloruro de estaño en 5 mL de HCl 0.25N. Nitrogenar por 15 minutos.

Preparación: Filtrar por separado las 2 soluciones en filtros Millipore de 0.22 u de porosidad. Mezclar lentamente las 2 soluciones (por gotas) y verificar pH=5.5
Filtrar en filtros Millipore.
Fraccionar 1.0 mL en cada frasco.
Liofilizar.

5. Metilendifosfonato (MDP) (3)

Parte A: Pesar 0.5 g de MDP

Solución B: Disolver 75.0 mg de cloruro de estaño en 50 mL de HCl 0.25N previamente nitrogenado.

Preparación: Mezclar parte A con solución B.
Llevar a pH=6.0-6.5 con NaOH 1N.
Completar con agua destilada nitrogenada hasta volumen final de 100 mL.
Filtrar con filtros Millipore de 0.22 u de porosidad.

Fracccionar 1 mL en cada frasco.

Liofilizar.

6. Acido dimercaptosuccínico (DMSA) (3)

Nitrogenar durante 20 minutos 133.3 mL NaCl 0.9%

Solución A: Disolver 100.0 mg de DMSA en 58.4 mL de NaCl 0.9% nitrogenada.

Adicionar NaOH 0.2N hasta disolver completamente y llegar a un pH=7 aprox.

(medir la solución NaOH adicionada)

Agitar constantemente y nitrogenar por 5 minutos.

Solución B: Disolver 82.4 mg de cloruro de estaño en 3.3 mL de HCl 0.2N nitrogenado.

Preparación: Agregar 1.0 mL de la solución B a la solución A.

Completar con NaCl 0.9% a la solución A hasta volumen final de 100 mL.

Nitrogenar durante 5 minutos.

Llevar a pH= 2.5-3.0

Nitrogenar durante 10 minutos.

Filtrar con filtros Millipore de 0.22 u de porosidad.

Fracccionar 1.0 mL en cada frasco de color ambar.

Liofilizar.

7. Macroagregados de albúmina (MAA) (3)

Solución A: Agregar en un frasco de reacción lo siguiente: 10 mL HSA 1%; 20 mL de NaCl 0.9% y 20 mL acetato de sodio 6%.

Solución B: Mezclar 3.0 mL de cloruro de estaño 0.5% en HCL.

Solución C: En un vial con 9.17 mL NaCl agregar 0.4 mL de tween 80 y filtrar.

Preparación: Con agitación y filtrado agregar la solución B a la soln A. Agregar la solución C.

Completar 100.0 mL con 0.9% NaCl.

Agitar en baño maría hirviendo durante 7 minutos.

Agitar fuertemente a temperatura ambiente por 15 minutos más.

Nitrogenar durante 15 minutos.

Chequear tamaño de partículas: 10-80 u.

Chequear pH=5.2-5.5

Fraccionar 1 mL en cada frasco.

Liofilizar.

8. Pirofosfato para marcar glóbulos rojos (3)

Solución A: Disolver 4.0 g de pirofosfato de sodio en 66.67 mL de NaCl 0.9%

Solución B: Disolver 1.0 g de cloruro de estaño en 33.33 mL HCl 0.25 N. Nitrogenar durante 15 minutos.

Preparación: Agregar la soln B a la soln. A lentamente.

Nitrogenar durante 15 minutos.

Llevar a pH=5-6

Filtrar en filtros Millipore de 0.22 u de porosidad.

Fraccionar 1.0 mL en cada frasco.

Liofilizar.