

30 ENE. 1978

**CONCEDIDA**

MINISTERIO DE INDUSTRIA  
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

(11) NUMERO	459285	(10) A 1
(22) FECHA DE PRESENTACION	30 MAYO 1977	



Case 29

**PATENTE DE INVENCION**

(30) PRIORIDADES:	(32) FECHA	(33) PAIS
(31) NUMERO		
6793/76	31 Mayo 1976	Suiza

(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	AGAK 43/00, 29/02	

(64) TITULO DE LA INVENCION

"PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR UNA COMPOSICION RADIATIVA PARA LA REPRESENTACION ESCINTIGRAFICA DEL SISTEMA HEPATOBILIAR"

(71) SOLICITANTE (S)

SOLCO BASEL AG

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

Aeschenvorstadt 48, CH-4051 Basel (Suiza)

(72) INVENTOR (ES)

Marc de Schrijver

(73) TITULAR (ES)

SOLCO BASEL AG

(74) REPRESENTANTE

D. JAIME ISERN CUYAS, Agente Oficial de la Propiedad Industrial

DESCRIPCIÓN

=====

Este invento se refiere a un nuevo preparado radiactivo para la representación escintigráfica , estática y sobre todo dinámica, del sistema hepatobiliar (hígado, vesícula biliar y conductos biliares).

5. Los preparados que predominantemente son transportados por el hígado a los conductos biliares y de ahí al intestino se llaman fármacos hepatobiliares. Preparados radiactivos correspondientes desempeñan hoy un gran papel en el diagnóstico de los trastornos funcionales de este sistema: permiten precisamente (mediante una multitud de vistas tomadas en un intervalo determinado de tiempo) captar exactamente los procesos dinámicos que se desarrollan y principalmente los del transporte hepatobiliar.
- 10.
15. Sobre la distribución y la biocinética de estos radiofármacos existen en la actualidad los conceptos siguientes: Después de la administración intravenosa, se distribuyen primeramente por el torrente circulatorio; al mismo tiempo se inicia también la eliminación del seno del torrente circulatorio por las células hepáticas, pasando por los conductos biliares hacia el intestino, y por los riñones, hacia las vías urinarias. Cuando no existe eliminación renal, la medición de las tasas de desaparición del preparado del torrente circulatorio proporciona una medida cuantitativa para la función hepática.
- 20.
- 25.

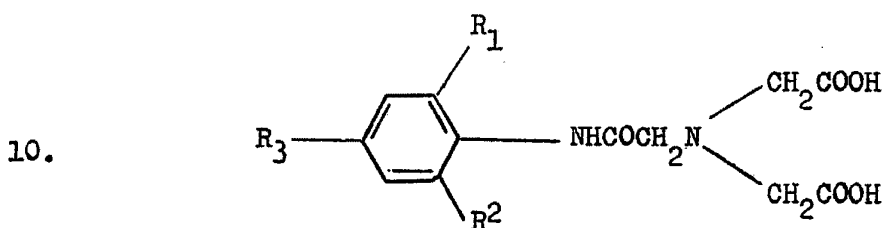
Sin embargo, todos los radiofármacos hepatobiliares conocidos hasta ahora se segregan, en parte, también por los riñones.

5. Para el fin en cuestión se emplean hasta ahora preparados marcados con yodo<sup>131</sup>, entre ellos el rosa Bengala-J131 (diclorotetra-yodo<sup>131</sup>fluoresceína), además del sulfato de difenil-yodonio<sup>131</sup>, la yodipamida-J131 y el bromosulfano-J131. No obstante, hace ya tiempo que se busca un preparado mejor; sería deseable, entre
10. otras mejoras, una mayor concentración en la bilis, una segregación más rápida por las células hepáticas y sobre todo la carga irradiativa más pequeña que sea posible del paciente.

15. De hecho el yodo<sup>131</sup> tiene un período de semidesintegración de 8,05 días y emite 42 % de cuantos no penetrantes, o sea sin valor diagnóstico, y 15 % de cuantos utilizables condicionalmente. Lo que esto significa para el paciente se deduce de lo que sigue: el caso patológico típico es un déficit funcional primario de las
20. células hepáticas o un bloqueo mecánico de la vía hepatobiliar. En ambos casos se llega a una extracción enlentecida del radiofármaco del torrente circulatorio o bien a su remanso en el torrente circulatorio. Si la eliminación renal no interviene en forma compensatoria (lo que
25. por motivos diagnósticos es precisamente deseable), este remando ocasiona una estancia demorada del radiofármaco en el cuerpo y con ello una carga de irradiación unas 10 a 100 veces mayor que en el hombre sano.

Ahora se ha descubierto un nuevo radiofármaco hepatobiliar que tiene en el aspecto cualitativo propiedades semejantes a las del rosa Bengala-J131, pero al mismo tiempo satisface mejor los requisitos planteados.

5. El preparado conforme a este invento se caracteriza por consistir en un complejo de iones de tecnecio  $99^m$  con un ácido dicarboxílico de la fórmula:



en la que dos a lo menos de los símbolos

15.  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  significan grupos alquílicos inferiores con 1 a 4 átomos de carbono, el tercer símbolo significa un átomo de hidrógeno o un grupo alquílico inferior con 1 a 4 átomos de carbono y los tres símbolos juntos representan en total 3 átomos de carbono a lo menos,

20. o con una de sus sales solubles en agua, en solución acuosa estéril.

En concepto de sales solubles en agua del ácido dicarboxílico entran en cuenta en primer término las sales de metales alcalinos, de preferencia las sales sódicas.

25. Se prefieren especialmente entre los ácidos dicarboxílicos de la fórmula que se ha expuesto antes el

5. ácido (2,6-dietilacetanilido)-iminodiacético ( $R^1$  y  $R^2 = C_2H_5$ ,  $R^3 = H$ ), el ácido (2,6-diisopropilacetanilido)-iminodiacético ( $R^1$  y  $R^2 = i-C_3H_7$ ,  $R^3 = H$ ) y el ácido (2,4,6-trimetilacetanilido)-iminodiacético ( $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3 = CH_3$ ).

El procedimiento para componer el preparado consiste en principio en dejar reaccionar entre sí una solución acuosa que contiene iones de tecnecio  $99^m$  con el ácido dicarboxílico o una sal hidrosoluble de éste.

10. La forma usual, porque prácticamente es la única que se halla en el comercio, de los compuestos de tecnecio  $99^m$  la constituyen los pertecnetatos, sobre todo el pertecnetato  $99^m$  de sodio. Una solución de pertecnetato se obtiene con ayuda de un generador de  $Mo99/Tc99m$ . Normalmente los eluatos que de ella se obtienen poseen una actividad voluminospecífica relativamente baja (inferior a 5 mCi/ml); basta ciertamente para la escintigrafía estática, pero no para estudios dinámicos (como es el caso para la escintigrafía de secuencia del sistema hepatobiliar). Por consiguiente estos eluatos deben elaborarse para una actividad voluminospecífica más alta. A ello se presta un método por extracción con metiletacetona, evaporación del disolvente y disolución del residuo en solución fisiológica de sal común; véase
15. Journal of Nuclear Medicine 11 (1970), 386. No obstante, actualmente se ha descrito otro método, mucho más sencillo, en la patente norteamericana 3.961.038, del mismo solicitante. La posibilidad inversa consiste en el empleo de
- 20.
- 25.

- un generador de Mo99/Tc99m de mayor concentración de actividad (300 a 500 mCi). Tales generadores dan por elución fraccionada en los primeros días eluatos de pertechnetato con actividad voluminospecífica suficiente
5. (10 a 15 mCi); sin embargo, son también correspondientemente más caros.

- Para componer el nuevo preparado es necesario no obstante que en el pertechnetato el tecnecio 99<sup>m</sup> heptavalente se reduzca a valencias más bajas; la
10. reducción puede efectuarse por diversos métodos, entre ellos la vía electrolítica y con ayuda de reductores.

- Extremadamente sencilla y cómoda se ha revelado la reducción por medio de una sal de estaño (II), de preferencia el cloruro de estaño (II). De consiguiente,
15. el preparado contiene entonces como otro componente más del complejo una sal de estaño, por lo general un cloruro de estaño.

- Lo mismo en su forma general que como complejo doble con una sal de estaño, tal como acaba de describirse,
20. el preparado presenta respecto a los radiofármacos conocidos hasta ahora, marcados con yodo<sup>131</sup>, una ventaja decisiva: el tecnecio 99<sup>m</sup> tiene precisamente un período de semidesintegración de 6 horas solamente y emite tan sólo 13 % de cuantos penetrantes, no aprovechables para
25. el diagnóstico. A causa de ello la carga de irradiación para el paciente, y sobre todo también para los niños, queda reducida a una fracción de la que se producía hasta ahora.

Por otro lado, el breve período de semi-desintegración que se ha mencionado para el tecnecio  $99^m$  hace necesario que el preparado se componga inmediatamente antes del uso, o sea poco antes de su introducción en el torrente circulatorio. A este requisito responde la modalidad siguiente, preferida, de realización del procedimiento.

5. Se prepara de una parte una solución acuosa estéril de un pertecnetato, preferentemente el pertecnetato  $99^m$  de sodio, que contiene la dosis de radiactividad calculada para un paciente (por lo general, 5 a 50 mCi, con ventaja 10 a 20 mCi). De otra parte se ponen juntos en solución acuosa los otros componentes del complejo, o sea el ácido dicarboxílico o una sal hidrosoluble de éste y una sal de estaño (II), principalmente cloruro de estaño (II), se ajusta la solución obtenida a un índice adecuado de pH, por ejemplo 5,5 a 6,5, y se esteriliza, de preferencia por filtración estéril.
10. En esta forma y como se comprende con exclusión del oxígeno puede guardarse la solución durante largo tiempo sin que se altere. Más seguro todavía es, sin embargo, convertir la solución acuosa estéril en una materia sólida pulverulenta por exclusión completa del agua, lo mejor mediante liofilización; en este estado la mezcla es estable durante meses.
15. 20. 25.

Las dos soluciones acuosas que acaban de describirse o bien la solución de pertecnetato y la mezcla sólida liofilizada o secada de otra manera consti-

tuyen los productos directos de partida para componer el preparado según la modalidad preferida de realización. El preparado listo para el uso se origina por la simple mixturación de ambas soluciones o de la solución de pertecnetato y la mezcla de materia sólida, lo cual puede realizarse inmediatamente antes de la administración, es decir, a la cabecera del paciente.

Dado que los reactivos destinados a la reacción con el pertecnetato están disponibles en una forma estable por mucho tiempo y fácil de utilizar, la aplicación del preparado se simplifica considerablemente. Como medios para la realización del procedimiento, la solución acuosa estéril descrita antes y la respectiva mezcla sólida, anhidra y estéril (ácido dicarboxílico, o respectivamente sal hidrosoluble, y sal de estaño II) constituyen otro objeto más del invento.

A continuación se describe con detalle la preparación de este agente con empleo de cloruro de estaño (II).

Se remueve el ácido dicarboxílico con un poco de agua, se añade a la mezcla, con agitación constante, lejía 1 N de sosa cáustica hasta alcanzar un pH de 7,5 a 8,5, con lo que se produce la disolución completa del ácido dicarboxílico, y se disminuye despacio el pH hasta un índice de 6,5 aproximadamente por instilación cautelosa de ácido clorhídrico diluido, con agitación. Se filtra la solución por un filtro estéril con tamaño de poros de 0,22 micras y se la trata muy despacio, con

agitación enérgica y manteniendo las condiciones estériles, con el menor volumen posible de solución de cloruro de estaño (II) en ácido clorhídrico 1 N o en ácido clorhídrico de concentración más débil. Por último, se ajusta la solución a pH de 5,5 a 5,7 y, con exclusión del oxígeno, se la distribuye en ampollas que se cierran o bien se someten primeramente a una liofilización y luego se cierran.

Por ejemplo, una ampolla así preparada puede contener 20 a 25 mg de ácido dicarboxílico y, como agente reductor, hasta 100 microgramos o hasta 200 microgramos de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , o también 40 mg de ácido dicarboxílico y hasta 100 microgramos o hasta 200 microgramos de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en forma sólida o, por ejemplo, en 4 cc de solución.

El examen analítico del preparado hecho de una de tales ampollas, por mezcla del contenido de la ampolla con una solución de pertecnetato  $99^{\text{m}}$  sódico, muestra un rendimiento de marcación prácticamente cuantitativo (superior al 98 %). Además, en el preparado listo para el uso la radiactividad aparece en menos del 5 % en forma coloidal no aprovechable.

Con el complejo de ácido (2,6-dietilacetanilido)-iminodiacético, cloruro de estaño (II) y pertecnetato  $99^{\text{m}}$  sódico se han efectuado primeros ensayos experimentales en animales. Como animal de experimentación se empleó el babuino y como preparado de comparación el rosa Bengala-J131.

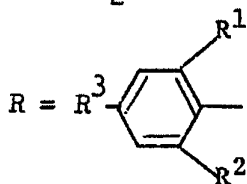
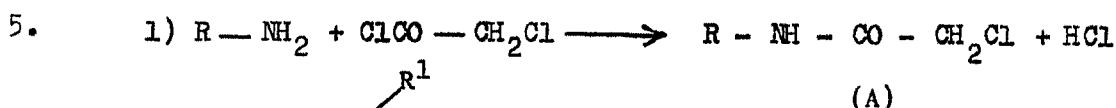
Se demostró que el coeficiente de desaparición (clearance) del preparado en cuestión del torrente circulatorio es unas dos veces mayor que el del preparado de comparación. Del nuevo preparado sólo se hallan en la sangre vestigios (menos del 1 % de la dosis administrada) al cabo de una hora, mientras que del rosa Bengala-J131 se advierte al cabo de una hora alrededor de 3 % y al cabo de 3 horas todavía un 2 % aproximadamente.

10. Por lo que atañe a la concentración del preparado en la bilis, en los primeros 30 minutos consecutivos a la administración es un múltiplo (más de cuatro veces más) de la del preparado de comparación. La concentración desciende despacio con el curso del tiempo, pero al cabo de 3 horas es todavía alrededor de 1/3 más alta que la del rosa Bengala-J131.

La secreción en la orina transcurre con relativa semejanza a la del preparado de comparación, es decir, aumenta con regularidad, pero en el caso del nuevo preparado con más lentitud. Al cabo de 3 horas se aproxima a un índice de 5 % aproximadamente de la dosis administrada, frente a un 2 % para el preparado de yodo<sup>131</sup>.

Además de la preservación ya mentada del paciente en el aspecto de la carga irradiativa, el nuevo preparado aporta, respecto al más conocido de los preparados empleados hasta ahora, las ventajas de una segregación más rápida del torrente circulatorio y un enriquecimiento correspondientemente más rápido y notablemente mayor en el sistema hepatobiliar.

Dado que los ácidos dicarboxílicos de la fórmula indicada al principio son compuestos nuevos, a continuación se describe un procedimiento para su síntesis.

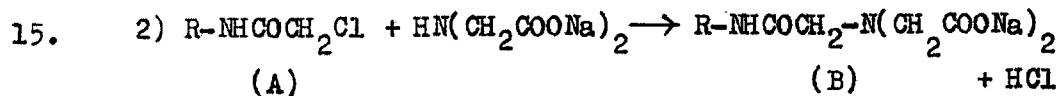


10. Se disuelve en acetona anhidra la anilina sustituida, en una relación cuantitativa de 100 g por 100 a 200 cc de acetona, y se pasa la solución a un embudo separador. Por otro lado se pone a enfriar en un baño de agua de hielo un matraz de reacción y se vierte en él
15. cloruro de cloroacetilo recién preparado, en exceso molar de 10 % respecto a la cantidad de anilina sustituida. A continuación se deja instilar despacio, con agitación constante y prosiguiendo la refrigeración la solución de la anilina. Terminada la adición, se agita la mezcla durante 30 minutos más, se agrega una cantidad de agua
20. suficiente para la hidrólisis del cloruro de cloroacetilo en exceso, se agita por 10 minutos todavía y se pasa la mezcla, si es necesario, a un recipiente de reacción mayor.

25. Durante ello hay que tener en cuenta que la anilina actúa también con agente aceptor de ácido, por lo que sólo la mitad de ella se transforma en el compuesto de la fórmula A anterior, mientras la otra mitad queda en la mezcla reaccional como clorhidrato de anilina. A eso

puede remediarse mediante el uso de otro agente aceptor de ácido, pero con ello se dificulta la purificación del compuesto A.

5. Se añade a la mezcla ácido clorhídrico 0,1 N en un volumen de acetona 10 a 20 veces mayor y se agita enérgicamente. El compuesto A se precipita en forma sólida, mientras que el ácido cloroacético es fácilmente soluble en ácido clorhídrico 0,1 N y se excluye por filtración. Se lava el compuesto dos veces con un gran volumen de
10. ácido clorhídrico 0,1 N y finalmente se le purifica por recristalización a partir de etanol acuoso al 50 a 80 %. El compuesto cristalizado, puro, debe ser de color blanco hasta ligeramente amarillento.



- Se disuelve la cantidad deseada del compuesto A en la cantidad más pequeña que sea posible de etanol absoluto. Por otro lado, se disuelve un exceso del 100 %
20. del ácido iminodiacético en una solución del equivalente molar de hidróxido sódico en un pequeño volumen de agua; a la misma solución se añade una cantidad, equimolar respecto al cloruro A, de carbonato sódico. Se mezclan ambas soluciones y se calienta en reflujo a 80° C durante 12
25. horas a lo menos.

Terminada la reacción, se agrega a la mezcla una pequeña cantidad de agua, correspondiente a la mitad del volumen del etanol incluido al principio, y se evapora

- el etanol por completo bajo presión reducida. Después de la evaporación del etanol se agrega otra vez una pequeña cantidad de agua y se filtra la solución, para eliminar el cloruro A que no haya reaccionado. La solución
5. filtrada contiene el compuesto B deseado en forma de su sal disódica, más otras sales. En esta fase del procedimiento se observa muchas veces, según la pureza del producto de partida empleado, la formación de un residuo gomoso, oleoso, insoluble en agua. Este residuo puede
10. excluirse de la fase acuosa con facilidad extrayendo la fase varias veces con éter dietílico hasta conseguir una solución límpida. El éter dietílico que queda debe eliminarse por calentamiento de la solución antes de aislar de ésta el compuesto B.
15. Para el aislamiento del compuesto B se disminuye el pH de la solución hasta un índice de 1,5 a 2,0 por adición lenta de ácido clorhídrico, durante 30 minutos y con agitación. Se separa por filtración la materia precipitada y se la lava dos veces con ácido clorhídrico
20. 0,025 N, frío.
- Para la purificación del compuesto puede procederse así: Se disuelve el compuesto en lejía fuertemente diluída de sosa cáustica, a pH de 8 a 8,5, con lo que después de agitación enérgica se obtiene una solución
25. límpida; en el caso de que la solución no sea límpida, se la filtra. Se añade a la solución tanta acetona que corresponda al 20 % de su volumen y se mezcla vigorosamente, se reduce el pH a 2,0 por adición lenta de ácido

- clorhídrico 5 N y se ajusta con el mismo índice de pH durante 2 horas a lo menos. En este momento se produce muy despacio la precipitación del compuesto, que es separado por filtración. Si el compuesto obtenido no es de color blanco puro, se repiten las etapas de purificación que acaban de describirse. La última purificación se efectúa en solución acuosa, sin adición de acetona. Luego se seca el compuesto bajo presión reducida.
- 5.

- De la manera que acaba de describirse se han preparado los compuestos siguientes:
- 10.

ácido (2,6-dietilacetanilido)-iminodiacético,  
de punto de fusión 176-178° C,

ácido (2,6-diisopropilacetanilido)-iminodiacético,  
de punto de fusión 166-175° C y

15. ácido (2,4,6-trimetilacetanilido)-iminodiacético,  
de punto de fusión 200-210° C.

Estos compuestos son, como ácidos dicarboxílicos libres, insolubles en agua.

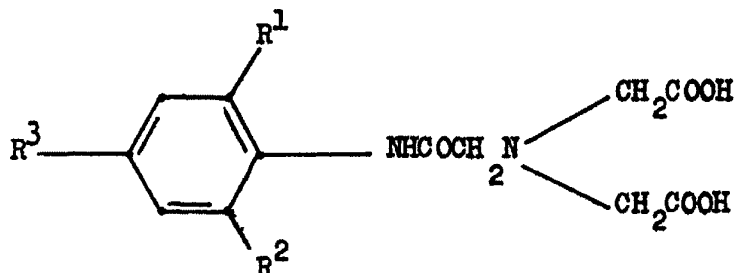
-.-

#### N O T A

- Descrito el objeto del presente invento, se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones, con prioridad de la solicitud de patente de invención nº 6793/76 del 31 de Mayo de 1976.
- 20.

1. Procedimiento para preparar una composición radiactiva para la representación escintigráfica del sistema hepatobiliar, caracterizado porque se hace reaccionar un ácido dicarboxílico de la fórmula general

5.



10.

en la que dos a lo menos de los símbolos

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> significan grupos alquílicos inferiores con 1 a 4 átomos de carbono, el tercero significa un átomo de hidrógeno o un grupo alquílico inferior con 1 a 4 átomos de carbono y los tres símbolos juntos representan 3 átomos de carbono a lo menos,

15.

o una de sus sales solubles en agua, en condiciones estériles, con una solución acuosa que contenga iones de tecnecio <sup>99m</sup>, para formar el complejo de los citados iones

20.

tecnecio <sup>99m</sup> con el ácido dicarboxílico de la citada fórmula general.

25.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque en una forma de realización preferente la reacción se lleva a cabo entre el ácido dicarboxílico (o la sal de éste soluble en agua) y una solución acuosa de perteonato <sup>99m</sup> en presencia de una sal de estaño (II), cuya composición contiene como otro componente del complejo una sal de estaño.

3. Procedimiento según la reivindicación 2, caracterizado porque para su realización se utiliza preferentemente como solución de pertecnato  $99^m$ , una solución de pertecnato  $99^m$  sódico y/o, como sal de estaño (II), cloruro de estaño (II).

5.

4. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque para su realización se seleccionan preferentemente los ácidos dicarboxílicos de la fórmula general en que  $R^1$  y  $R^2$  significan cada uno un grupo etílico o isopropílico y  $R^3$  significa un átomo de hidrógeno o bien  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  significan cada uno un grupo metílico.

10.


5. Procedimiento para preparar una composición radiactiva para la representación escintigráfica del sistema hepatobiliar.

15.

Segun se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 16 hojas foliadas y escritas a maquina por una sola cara.

Madrid, a 30 de Mayo de 1977

p.a.

JAIME ISERN  
p.p.  
  
Firmado: JOSE F. NIETO

