

BENZAMIDAS MARCADAS CON ¹³¹I/123 IODO PARA DETECCIÓN DE MELANOMAS Y METÁSTASIS. SÍNTESIS, MARCACIÓN, ESTUDIOS EN ANIMALES y PRIMEROS ESTUDIOS CLÍNICOS.

Pozzi Oscar R.¹, Edreira M.M.¹, Zarlenga C.², Arashiro J.², Parma P.², Soroa V.³, Castiglia S. G.¹

Comisión Nacional de Energía Atómica, ¹C.A.E.-Grupo de Radiofarmacia-U.A.Radioquímica, ²C.M.N. Instituto Roffo, ³C.M.N. Hospital Clínicas.

Contacto: pozzi@cnea.gov.ar

RESUMEN

Las benzamidas marcadas con (¹³¹I/¹²³I)-iodo son radiofármacos que actualmente se estudian para detección de melanomas y metástasis. El melanoma es un tumor maligno de la piel.

En un lapso muy corto nuestro laboratorio realizó la síntesis y marcación de la N-(2-dietilaminoetil)-3-[¹³¹I]iodo-4-metoxibenzamida (IMBA).

Estos estudios se realizaron fundamentalmente para estudiar la captación del radiofármaco por melanomas y sus metástasis. Posteriormente se hicieron estudios *in vivo* para estudiar su captación en ratones C57 a los cuales se le provocaron tumores subcutáneos y metástasis en pulmón con células de melanoma murino B16-F0. Actualmente se han comenzado los estudios clínicos.

Los resultados obtenidos en el modelo animal muestran claramente que la ¹³¹I-IMBA es un radiofármaco con una alta captación por melanomas y sus metástasis, alta especificidad, una rápida excreción y en consecuencia con una excelente relación de captación tumor/fondo.

Estos resultados y la información bibliográfica existente indican a este radiofármaco, dentro de los radiofármacos de síntesis, como el más útil para detección de melanomas y detección temprana de metástasis. El análisis de los estudios en pacientes confirmarán si estos resultados obtenidos en un modelo biológico animal son extrapolables al humano.

INTRODUCCIÓN

Las benzamidas son radiofármacos que en sus orígenes fueron desarrollados para imágenes de receptores del sistema nervioso central ^{1,2,3}. Estas tuvieron su auge para estudios *in vivo* de receptores del sistema nervioso central (SNC) hasta mediados de los noventa ⁴, pero desde entonces han sido prácticamente dejadas de lado para este tipo de estudios. Poco después de los primeros estudios del SNC con benzamidas (fines de los ochenta) se descubrió accidentalmente que éstos radiofármacos eran captados por las estructuras melanoides de animales pigmentados de laboratorio. Inmediatamente después se probó y observó que eran captados por melanomas. El melanoma es un tumor maligno de la piel el cual surge por transformación maligna del melanocito.

Actualmente solo tres benzamidas han sido extensamente estudiadas [¹²³I]-IBZM ⁵ (¹²³I-(S)-2-hidroxi-3-iodo-6-metoxi-N-[(1-etil-2-pirrolidin)metil benzamida]) ,

[¹²³I]-IDAB ⁶ (¹²³I- *N*-(2-dietilaminoetil)-4-iodobenzamida), [¹²³I]-IMBA ⁷ (*N*-(2-dietilaminoetil)-3-[¹³¹I]iodo-4-metoxibenzamida).

De estas tres, la [¹²³I]-IBZM, que es un producto comercial, fue usada extensamente para imágenes de receptores del SNC. Lamentablemente se observó que no es muy útil en tumores pues no posee buena captación por el tumor y además su alta lipoficidad produce un lento clearance. La [¹²³I]-IDAB, a partir de 1991, se estudió extensamente en Francia para diagnóstico de melanoma y sus metástasis ^{6,8}. El problema con este radiofármaco es que tiene una importante actividad hepática, con lo cual si bien su especificidad y sensibilidad son buenas, se concluyó que hacían falta otras benzamidas de menor lipoficidad para que tuvieran menor captación hepática, clearance más rápido y por lo tanto mejor relación de captación tumor/fondo.

Recientemente (1997) en Alemania ⁹ se desarrollaron y estudiaron veintisiete benzamidas distintas. Los estudios de captación por el tumor en ratones con melanoma murino mostraron que la ¹²³I-IMBA presentaba la mayor captación en el tumor de todos los sintetizados. Posteriormente se realizó otra serie de experimentos ⁷, con melanomas murinos comparando la ¹²³I-IMBA versus la ¹²³I-IDAB y otros seis radiofármacos similares a esta última con variaciones estructurales en la zona aromática. Estos experimentos incluyeron estudios de biodistribución, excreción, transporte, unión a proteínas, farmacocinética y finalmente estudios en humanos. Se concluyó que la ¹²³I-IMBA era la mejor de todas las benzamidas hasta ese momento existentes para detección de melanomas y sus metástasis, porque además de tener una muy alta captación por el tumor y casi nula captación en cerebro, posee además una baja lipoficidad, baja captación hepática, baja captación en proteínas de transporte y de tejidos, por lo tanto rápido clearance y en consecuencia excelente relación de captación tumor/fondo. Todo esto indica que este radiofármaco cumple con prácticamente todas los criterios para usarlo como radiofármaco de rutina.

RESULTADOS

1. Síntesis y Marcación

a) Síntesis de la benzamida fría :

La síntesis se realiza a través de una reacción muy simple entre el 4-metoxi-cloruro de benzoilo y la 2-(dietilamino)-etilamina. Se realiza a temperatura ambiente, es casi inmediata. Solamente se debe agregar suavemente el cloruro de acilo disuelto en éter a una cantidad equimolar de la amina con la única precaución de trabajar con solventes anhidros y en atmósfera seca. Posteriormente se purifica la benzamida por extracción, se aísla como clorhidrato y se recristaliza de acetato de etilo anhidro.

b) Marcación con ¹³¹I

El IMBA fue marcado por un método de demetalación desarrollado en 1969 por Mc.Killop. Este método es muy sencillo, de buen rendimiento, suave y adecuado para compuestos lábiles. Simplemente se hace reaccionar soluciones equimolares de la benzamida con trifluoracetato de talio en ácido trifluoracético durante 5 min. a temperatura ambiente y luego se agrega el ¹³¹INa. La reacción es inmediata. Se purifica y controla por SepPak C18. Se obtuvieron porcentajes de marcación de 60-67%.

2. Estudio IN VIVO. Modelo Animal

Estos se realizaron fundamentalmente para estudiar la captación del radiofármaco por melanomas y sus metástasis.

Todos los experimentos in vivo se hicieron en ratones C57 de 25-30 gr. de peso. Los estudios de toxicidad del radiofármaco hasta una dosis 7000 veces mayor a la dosis/Kg. a ser inyectada a un humano no mostraron ningún efecto en el ratón.

La biodistribución en ratones normales (1-6 y 24 hs) muestra que el radiofármaco sufre una rápida excreción renal y en menor medida a través del sistema hepatobiliar. Los mayores actividades se observan en estómago y orina. Ya a 1 hr postinyección el 30 ± 3 % ID/g (% de la dosis inyectada captada por gramo) fue eliminada por orina y un 33 ± 3 % ID/g se encuentra en estómago, un 20 ± 2 % ID/g se encuentra en intestino.

Posteriormente se realizaron los estudios de captación por el tumor en ratones C57.

Para esto se utilizaron dos modelos animales distintos. En el primero de ellos, un modelo de tumor primario, se inyectaron 62500 células/ratón de melanoma murino B16-F0 por vía subcutánea para provocar un melanoma subcutáneo. El segundo de ellos, un modelo de metástasis, se inyectaron 95.000 células/ratón de melanoma murino B16-F0 por vía endovenosa, para producir metástasis en pulmón.

La relación de captación entre el melanoma (tumor primario) y los distintos órganos y/o tejidos no blanco, a 1, 6 y 24 hr postinyección muestran un alto porcentaje de captación por el tumor. Los estudios se realizaron 21 días después de la inyección subcutánea de las células.

Relación de captación melanoma/tejido no blanco – 24 hs

melanoma/sangre	melanoma/pulmón	Melanoma/hígado
29 ± 3	55 ± 5	36 ± 3

Posteriormente se realizaron los estudios de captación del radiofármaco en metástasis. Nuestro laboratorio utilizó un modelo de metástasis (MTTS) en pulmón, los estudios se realizaron 23 días después de inyectadas las células. A ese tiempo los pulmones mostraban claramente metástasis visibles de 1-2 mm diámetro, se desarrollaron entre 20 y 70 metástasis. Se realizó el estudio de captación a 6 hs postinyección del radiofármaco. Los resultados en pulmón muestran claramente un aumento de la captación (%ID/g) respecto del pulmón normal en función del número de metástasis (nro. MTTS), %ID/g MTTS / normal : 6 (para 70 MTTS), 4 (36 MTTS), 1,7 (20 MTTS). También como consecuencia de la captación del tumor se observa (en relación con ratones normales) una menor eliminación en orina, menor actividad en hígado y sangre; por ej. en orina : %ID/g MTTS / normal = 0.36. Hasta el momento se realizaron dos estudios en pacientes, con inyección de 1 mCi de [¹³¹I]-IMBA, bloqueo previo de tiroides y rastreo a 6-24 y 48 h postinyección; en los dos casos con melanomas (tumor primario) en extremidades ya extirpados (uno de ellos con recidiva), y ambos bajo estudio por probables metástasis. Actualmente los resultados están siendo evaluados y contrastados con estudios ecográficos e histológicos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el modelo animal muestran claramente que la ¹³¹I-

IMBA es un radiofármaco con una alta captación por melanomas y sus metástasis, alta especificidad, una rápida excreción y en consecuencia con una excelente relación de captación tumor/fondo.

Estos resultados y la información bibliográfica existente indican a este radiofármaco como el más útil, dentro de los radiofármacos de síntesis, para detección de melanomas y detección temprana de metástasis. El análisis de los estudios en pacientes confirmarán si estos resultados obtenidos en un modelo biológico animal son extrapolables al humano.

Tanto su síntesis, como el método de marcación empleado son simples y reproducibles. En particular esta última, dado su sencillez y robustez, será fácilmente automatizable en futuras marcaciones con ^{123}I . Por lo tanto de confirmarse su utilidad diagnóstica es un radiofármaco con una relación beneficio/costo muy alta, pues daría una valiosa información médica con un costo muy bajo, porque es muy económico y sencillo de hacer.

REFERENCIAS

1. Seeman P., Niznik H.B., *Endogenous dopamine lowers the dopamine D2 receptor density as measured by [^3H]raclopride: implications for positron emission tomography of the human brain.* Synapse 3(96-97),1989.
2. Farde L., Sedvall G. *D2 dopamine receptors in neuroleptic-naive schizophrenic patients. A positron tomography study with [^{11}C]raclopride.* Arch.Gen.Psychiatry 47(3):213-219, 1990.
3. Kung H.F., Mach R.H., *Dopamine D2 receptor imaging radiopharmaceuticals: synthesis, radiolabeling, and in vitro binding of (R)-(+)- and (S)-(-)-3-iodo-2-hydroxy-6-methoxy-N-[(1-ethyl-2-pyrrolidinyl)-methyl]-benzamide.* J.Med.Chem. 31(5):1039-1043,1988.
4. Mather S.J. *current Directions in Radiopharmaceuticals Research and Development,* 99-113. Kluwer Academic Publishers, 1996
5. Mafioli L., Buraggi G.L., *Scintigraphic Detection of Melanoma Metastases with a Radiolabeled Benzamide ([Iodine-123]-S)-IBZM.* J.Nucl.Med. 1994; 35:1741-1747
6. Michelot J.M., Plagne R.J. *Phase II Scintigraphic Clinical Trial of Malignant Melanoma and Metastases with Iodine-123-N-(2-Diethylaminoethyl 4-iodobenzamide).* J.Nucl.Med. 1993;34:1260-1266.
7. Nicholl C., Hull W.H, *Pharmacokinetics of Iodine-123-IMBA for Melanoma Imaging* J.Nucl.med. 1997; 38:127-133.
8. Michelot J.M., Labarre P.G., *Synthesis and evaluation of new iodine-125 radiopharmaceuticals as potential tracers for malignant melanoma.* J.Nucl.Med 1991;32:574-1580.
9. Mohammed A., Nicholl C., Eisnhut A., *Radioiodinated N-(Alkylaminoalkyl)-Substituted 4-Methoxy-,4-Hydroxy, and 4-Aminobenzamides: Biological Investigations for the Improvement of Melanoma Imaging Agents.* Nuclear Medicine & Biology, 24:373-380,1997.