









Producción de [¹⁸F]Fludesoxiglucosa en Cuba

 Dianisleidys Gómez García,  Reynier Espinosa Torres,  Yordanka Martínez Almaguer,  Leonardo García Reyes,  Aily Caridad Aguiar Agramonte,  Lissett Gutiérrez Hernández,  Henry Reyes Pérez,  Yurilma González Valdés,  Hortensia Morales Arranz,  Mayka Caridad Guerrero Cancio

Centro Especializado en Diagnóstico y Terapia (CEDT), La Habana, Cuba
dgomez@cimeq.sld.cu

Resumen

Con la implementación de la tecnología en Cuba para la fabricación de [¹⁸F]Fludesoxiglucosa ([¹⁸F]FDG), se incursiona por primera vez en el país en la producción de radiofármacos positrónicos marcados con un radionucleido obtenido en ciclotrón.

Este trabajo presenta el diseño del flujo productivo para la fabricación de [¹⁸F]FDG en el Centro Especializado de Diagnóstico y Terapia teniendo en cuenta las directrices establecidas por las Buenas Prácticas de Fabricación y las Normas Básicas de Seguridad Radiológica. Además, se muestra la evaluación de consistencia en lotes de producción, información que complementó la validación de proceso. Como resultado se obtuvo que el proceso productivo, según el flujo diseñado, es capaz de brindar consistentemente un producto farmacéutico inyectable de la calidad requerida y que cumple con sus especificaciones.

Palabras clave: flúor 18; fluorodeoxiglucosa; control de calidad; manufactura; producción; radiofármacos; tomografía computarizada con positrón.

Production of [¹⁸F]Fludeoxyglucose in Cuba

Abstract

With the implementation of the technology in Cuba for manufacture of [¹⁸F]Fludeoxyglucose ([¹⁸F]FDG), it is incurred for the first time in the country in the production of positronic radiopharmaceuticals obtained from cyclotron.

This paper presents the productive flow design of [¹⁸F]FDG manufacture at the Specialized Center of Diagnosis and Therapy based on the guidelines established by the Good Manufacturing Practices and the Basic Norms of Radiological Security. In addition, the consistency assessment in production batches is shown, information that complemented the process validation. As a result was obtained that the production process, according to the designed flow, is able to consistently provide an injectable pharmaceutical product of the required quality and that meets its specifications.

Key words: fluorine 18; fluorodeoxyglucose; quality control; stability; manufacturing; production; radiopharmaceuticals; positron computed tomography.

Introducción

Los radiofármacos son compuestos radiactivos, administrados en cantidades de trazas, que se utilizan para el diagnóstico o tratamiento de diversas enfermedades. Las aplicaciones diagnósticas se presentan en mayor proporción en los estudios de medicina nuclear [1].

La fabricación y control de los radiofármacos han de realizarse de conformidad con las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF), cumpliendo con lo que se estipula en las Normas Básicas de Seguridad Radiológica. Deben asegurarse prerrequisitos básicos dentro de los cuales

se encuentran la calificación del personal, diseño de las instalaciones que garantice la seguridad radiológica de la práctica y los requerimientos de las BPF, calibración de instrumentos, calificación de sistemas, equipos y áreas [2-5].

En la concepción del proceso productivo se deben estandarizar los procedimientos de operación y limpieza y asegurar la trazabilidad de todas las operaciones realizadas. Ha de incluirse la verificación y control diario de equipos y sistemas, identificación de puntos críticos y controles de proceso [2-4].

Al proceso diseñado de acuerdo a los requisitos antes expuestos, deberá evaluarse su desempeño, para lo cual se verificará que produce consistentemente un producto que reúne sus especificaciones y atributos de calidad predeterminados [6].

La [¹⁸F]Fludesoxiglucosa es uno de los radiofármacos más utilizados en la Tomografía por Emisión de Positrones (TEP). El período de semidesintegración del ¹⁸F (109,8 min) y la baja energía del positrón (0,64 MeV) hacen a este radionucleido adecuado para la práctica clínica. A sus potencialidades físicas se adiciona la capacidad para marcar la glucosa, conformando un trazador metabólico eficaz para evaluar el metabolismo celular de la glucosa [1].

Existen varios métodos para la síntesis de [¹⁸F]FDG [5,7,8]. La fluoración por vía sustitución nucleofílica bimolecular (SN2) seguida de una hidrólisis catalizada por base o ácido es una de las variantes más utilizadas, debido a los altos rendimientos que se obtienen en la reacción, superiores al 50% sin corrección por decaimiento [5,9]. La primera reacción incorpora el ion fluoruro (¹⁸F⁻) al precursor orgánico triflato de manosa, en la segunda los grupos acetil protectores se hidrolizan para generar los grupos hidroxilo libres del producto final. Además de estas reacciones el proceso incluye varios pasos de purificación, con lo cual se obtienen elevados valores de pureza radioquímica [1].

Es objetivo de este trabajo presentar el diseño del flujo productivo para la fabricación de [¹⁸F]FDG en el Centro Especializado de Diagnóstico y Terapia teniendo en cuenta las directrices establecidas por las Buenas Prácticas de Fabricación y las Normas Básicas de Seguridad Radiológica y mostrar la evaluación de consistencia en lotes de producción.

Materiales y métodos

En el diseño del flujo de producción se utilizó como herramienta un diagrama de Otida. Los puntos críticos fueron determinados en base a un análisis de riesgo empleando como herramienta la metodología Análisis de Modo y Efecto de la Falla, FMEA por sus siglas en inglés [3].

La obtención del ¹⁸F se realizó en un ciclotrón IBA 18 Twin a partir de la irradiación con protones de un blanco de agua enriquecida al 97% en ¹⁸O a una corriente de 42 μA.

La síntesis de [¹⁸F]FDG se realizó en módulo automático Synthera V2 por el método de sustitución nucleofílica bimolecular (SN2) seguido de hidrólisis básica. El set de reactivos utilizado fue el kit optimizado del fabricante ABX para la síntesis de FDG en módulos Synthera+. Para la retención del ¹⁸F se empleó una columna de intercambio aniónico QMA carbonatada. En la purificación se hizo pasar la mezcla de reacción hidrolizada por una resina de intercambio catiónico (SCX), a continuación, por una columna de óxido de aluminio (Al-B) y finalmente por una de extracción en fase sólida (HLB).

Para la dilución y fraccionamiento se empleó la unidad de fraccionamiento automático de la dosis μ-DDS de Tema Sinergie. La formulación final se completó con una solución buffer fosfato 0,05 M y con cantidad suficiente de solución salina isotónica para obtener una concentración de referencia de 185 MBq/mL siete horas después del inicio de la dilución.

Para evaluar la consistencia del proceso se fabricaron tres lotes consecutivos de [¹⁸F]FDG. Se consideraron dos parámetros fundamentales: el rendimiento de síntesis y los resultados de los controles de calidad del producto terminado.

El rendimiento de producción se calculó sin corrección por decaimiento a partir de las lecturas de actividad realizadas al inicio de la síntesis, en calibrador de dosis MED y al final de esta, en calibrador de dosis CAPINTEC.

Los atributos de calidad se verificaron mediante técnicas analíticas validadas. Los resultados obtenidos se compararon con la especificación (tabla 1) [10].

Tabla 1. Especificaciones de calidad de la [¹⁸F]FDG. Referencia USP 40.

Atributo de calidad	Técnica analítica	Especificación de calidad
Apariencia	Inspección visual	Libre de partículas en suspensión. Solución incolora o ligeramente amarilla.
pH	pH-metro	4,5 – 7,5
Pureza radioquímica		
[¹⁸ F]FDG	Cromatografía de capa delgada	≥ 90%
Pureza química		
Kryptofix	Cromatografía de capa delgada	≤ 50 μg/mL
Etanol	Cromatografía gaseosa	≤ 50 mg/10 mL
Acetonitrilo	Cromatografía gaseosa	≤ 4,1 mg/10 mL
Pureza radionucleídica		
Identidad (T1/2)	Calibrador de dosis	105 min - 115 min
Energía fotones	Espectrometría gamma	≥ 99,5% (emisión gamma a 511 keV y/o 1022 keV)
Atributos microbiológicos		
Límite de endotoxinas	LAL. Espectrofotometría	< 175 UE/10mL
Esterilidad	Ensayo por inoculación directa	Estéril

Resultados y discusión

La figura 1, muestra el diagrama de flujo para la fase productiva. Se identificaron las principales operaciones, puntos de control, pasos, transferencia y demora.

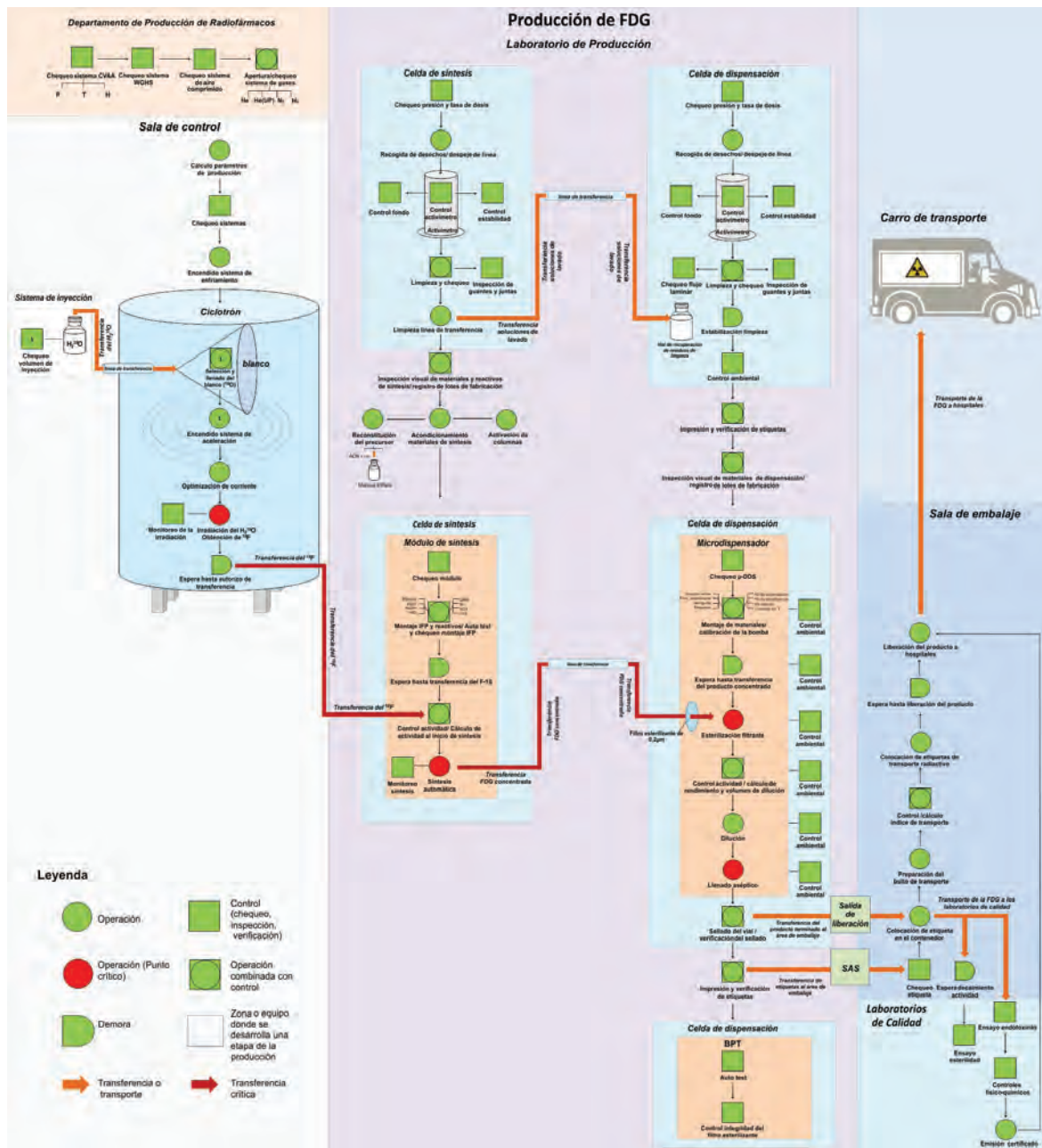


Figura 1. Diagrama de flujo de producción de ^{18}F FDG.

El ciclo de producción comienza con el chequeo de sistemas críticos (calefacción ventilación y aire acondicionado, sistema de compresión de gases residuales, y aire comprimido). Antes de iniciar la irradiación se verifica la planificación de algunos parámetros como son el tiempo de irradiación, hora de comienzo y finalización en función de la actividad requerida y la hora programada. La irradiación del blanco es monitoreada por el operador desde la sala de control, a partir de la supervisión de parámetros como corriente y presión.

Simultáneamente a la irradiación se acondiciona el laboratorio de producción para las etapas de síntesis y dispensación. Constituyen pasos fundamentales la correcta limpieza de las celdas y línea de transferencia; el chequeo a los calibradores de dosis, el módulo de síntesis, el microdispensador y testador de filtro; la inspección visual de materiales y reactivos y su acondi-

cionamiento; el monitoreo ambiental microbiológico y radiológico y el registro de operaciones.

Durante la síntesis automática el operador monitorea el comportamiento de los parámetros de presión, temperatura y actividad en el panel de control del módulo de síntesis.

Los pasos de transferencia de actividad, primero a celda de síntesis y luego a dispensación, se chequea a partir de las lecturas del calibrador de dosis correspondiente.

El llenado aséptico del producto tiene lugar en un entorno clase A. Se asegura el control microbiológico del ambiente con el muestreo del aire por sedimentación, muestreo de partículas viables, recuento de partículas no viables y muestreo de las superficies de trabajo y guantes de manipulación. Finalizada la dispensación de todos los viales se evalúa la integridad del filtro esterilizante mediante una prueba del punto de burbuja.

Conforme los viales se liberan de la celda de dispensación al área de embalaje caen automáticamente en un contenedor plomado, son extraídos, colocados en una caja de transporte y se les calcula el índice de transporte.

En las etapas de llenado y su acondicionamiento se verifica, conforme al testigo, que las etiquetas del bulbo, el contenedor y la caja de transporte sea legible, sin errores y que contenga correctamente toda la información del lote.

Evaluación de la consistencia del proceso en lotes de producción

Se fabricaron tres lotes de consistencia. En cada lote se obtuvo 5 Ci de ¹⁸F para un rendimiento esperado de [¹⁸F]FDG del 50% sin corrección por decaimiento [5]. El valor promedio obtenido fue de $52,34 \pm 0,12\%$ con un coeficiente de variación de los resultados de 0,22% (figura 2).

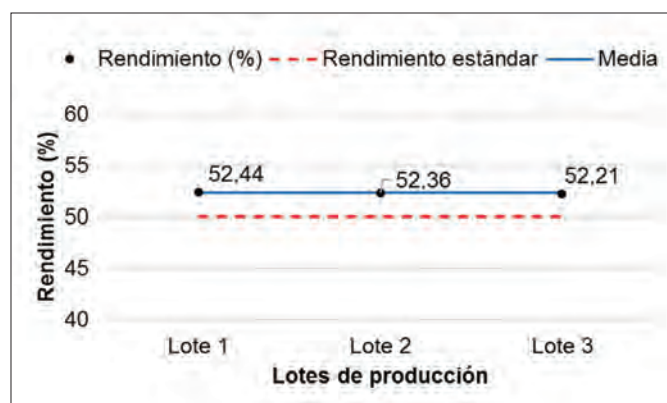


Figura 2. Rendimiento de síntesis [¹⁸F]FDG.

Los rendimientos de producción alcanzados resultaron adecuados para la práctica y se corresponden con los reportados en la literatura [5,9].

El producto terminado, para todos los lotes, cumplió con las especificaciones de calidad en dos muestras controladas, al inicio y al final de la dispensación, ambas representativas del lote completo. Los resultados se reportan como la media de los valores obtenidos de ambas muestras.

Atributos de calidad cualitativos (apariencia y esterilidad)

No hubo desviación de los atributos de calidad cualitativos en el producto terminado. Para todos los lotes se obtuvo una solución estéril, incolora y transparente, sin presencia de partículas en suspensión [10].

Concentración de endotoxinas

Durante el control de endotoxinas se cuantificaron concentraciones muy inferiores al límite permisible (tabla 2) [10]. El valor promedio de endotoxinas en el producto terminado fue de $1,47 \pm 0,09$ UE/ 10 mL.

Tabla 2. Especificaciones de calidad de la [¹⁸F]FDG. Referencia USP 40.

Lotes de producción	Límite de endotoxinas	Concentración de endotoxina \pm desviación estándar
Lote 1	< 175 UE/10 mL	$1,43 \pm 0,05$
Lote 2		$1,57 \pm 0,15$
Lote 3		$1,41 \pm 0,01$
Media (UE/10 mL)		1,47
Desviación estándar (UE/10 mL)		0,09
C.V (%)		5,83

pH

Favorablemente se obtiene un producto con pH cercano al fisiológico, aunque no centrado en la especificación (figura 3).

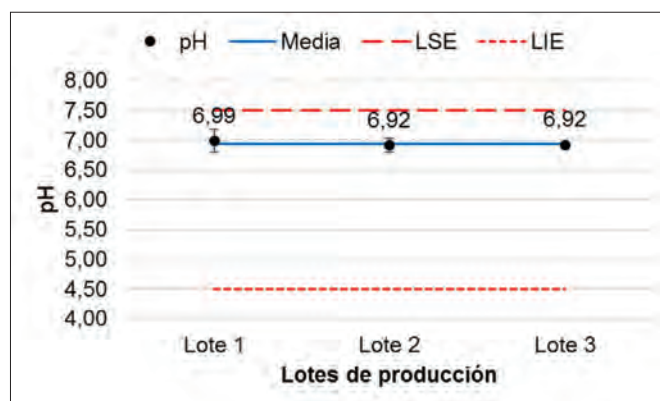


Figura 3. Control pH del producto terminado [¹⁸F]FDG. LSE: límite superior de especificación, LIE: límite inferior de especificación. El error se reporta como la desviación estándar de los resultados. La desviación estándar en el lote 3 fue menor de 0,05.

Los valores de pH cuantificados cumplieron con los criterios de aceptación para todos los lotes [10], el valor promedio obtenido fue de $6,94 \pm 0,04$ y el coeficiente de variación de los resultados 0,60%.

Pureza radioquímica

Este control debe asegurarse antes de la liberación para la administración clínica [4]. Un radiofármaco diagnóstico sin una pureza radioquímica aceptable compromete la interpretación de las imágenes, implica un retardo en el diagnóstico preciso e implica someter al paciente a radiación innecesaria en caso de que el estudio deba repetirse [11].

La pureza radioquímica (PRQ) para todos los lotes fue superior al 98% (figura 4).

El valor promedio fue de $98,2 \pm 0,07\%$ y el coeficiente de variación de los resultados 0,07%. Estos resultados cumplen con la especificación de calidad ($\geq 90\%$) y son adecuados para la práctica médica en los estudios de medicina nuclear [10].

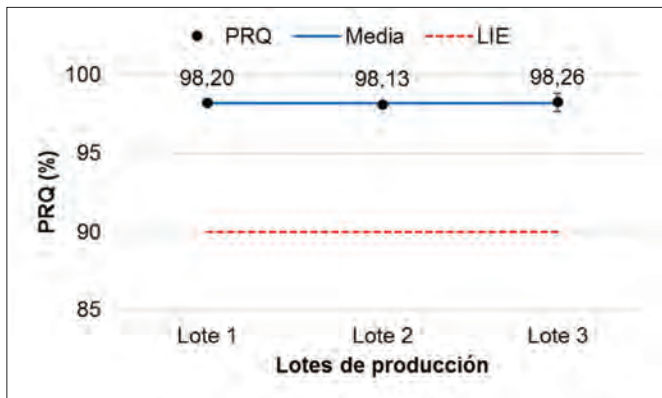


Figura 4. Control pureza radioquímica (PRQ) del producto terminado [¹⁸F]FDG. LIE: límite inferior de especificación. El error se reporta como la desviación estándar de los resultados. Las desviaciones estándar en los lotes 1 y 2 fueron menores a 0,6%.

Pureza química

La concentración de Kryptofix se determinó por un método semicuantitativo. Se comparó la coloración que toma la solución de [¹⁸F]FDG en atmósfera de yodo con una solución patrón preparada a la concentración del límite máximo permisible (50 µg/mL). Se determinó, para todos los lotes, que los niveles de esta impureza cumplen con la especificación de calidad [10].

No se detectaron impurezas de acetonitrilo en el producto. Este solvente, utilizado en la reconstitución del precursor, fue eliminado satisfactoriamente durante los pasos de evaporación y secado en el proceso de síntesis.

La tabla 3, resume las concentraciones de etanol cuantificadas. El valor medio en el producto terminado fue de 1,54 ± 0,57 mg/10 mL.

Tabla 3. Control de pureza química al producto terminado [¹⁸F]FDG (niveles de etanol)

Lotes de producción	Límite de etanol	Concentración de etanol ± desviación estándar (mg/10 mL)
Lote 1	≤ 50 mg/10 mL	1,78 ± 0,33
Lote 2		1,96 ± 0,29
Lote 3		0,89 ± 1,25
Media (mg/10 mL)		1,54
Desviación estándar (mg/10 mL)		0,57
C.V (%)		37,27

Los resultados tuvieron un elevado coeficiente de variación, aunque los niveles de este solvente residual fueron muy inferiores al límite permisible por especificación (≤ 50 mg/10 mL) [10].

Pureza radionuclídica

La identidad radionuclídica determinada a partir del cálculo del tiempo de vida media arrojó los siguientes resultados (figura 5).

El tiempo de vida media promedio en los lotes analizados fue de 111,0 ± 0,9 minutos, valor que se encuen-

tra en el rango de la especificación para el ¹⁸F [10]. El coeficiente de variación de los resultados fue 0.8%.

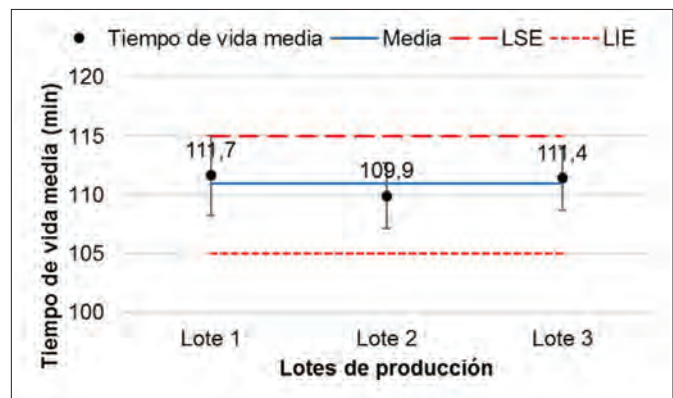


Figura 5. Control de identidad radionuclídica (determinación del tiempo de vida media) del producto terminado [¹⁸F]FDG. LSE: límite superior de especificación, LIE: límite inferior de especificación. El error se reporta como la desviación estándar de los resultados

En todos los lotes de producción el 100% de la emisión de fotones correspondió a las energías de 511 KeV y 1022 KeV, lo cual verificó que más del 99,5% de la actividad perteneció a un radionucleido de emisión positrónica [10].

Conclusiones

Se diseñó un flujo de producción para la fabricación de [¹⁸F]Fludesoxiglucosa en Cuba de acuerdo a los requerimientos de las Buenas Prácticas de Fabricación y las Normas Básicas de Seguridad Radiológica. El proceso diseñado es capaz de brindar consistentemente un producto farmacéutico inyectable con la calidad requerida y que cumple con sus especificaciones.

Referencias bibliográficas

- CHAIN CY, ILLANES L. Radiofármacos en medicina nuclear. Fundamentos y aplicación clínica. Universidad Nacional de La Plata-Editorial de la Universidad de La Plata, 2015.
- Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED). Buenas Prácticas de Producción de Radiofármacos. Regulación No. 16-2012. Anexo no. 05. CECMED, 2014.
- Pharmaceutical inspection convention- Pharmaceutical inspection co-operation scheme. Guide to good manufacturing practice for medicinal products. Annexes. Geneva: PIC/S Secretariat, 2017.
- United States Pharmacopeia (USP). Farmacopea de los Estados Unidos de América. Cap 823. USP 40 NF35 ed. Vol. 1. 817-828.
- International Atomic Energy Agency (IAEA). Cyclotron produced radionuclides: guidance on facility design and production of fluorodeoxyglucose (FDG). Vienna: IAEA, 2012.
- Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED). Regulación no. 16-2012 Directrices sobre Buenas Prácticas de Fabricación de productos farmacéuticos. CECMED, 2012.
- QUIRÓS AR. Radiofármaco [¹⁸F]FDG un aporte novedoso para el diagnóstico de cáncer en el país. Revista Médica de la Universidad de Costa Rica. 2015; 9(2). Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/medica/article/view/22002/22184>.
- YU S. Review of ¹⁸F-FDG synthesis and quality control. Biomed Imaging Interv J. 2006; 2(4): e57.

- [9]. SCHUBIGER PA, LEHMANN L, FRIEBE M. PET chemistry the driving force in molecular imaging. J Nucl Med. 2007; 48(10): 1750.
- [10]. United States Pharmacopeia (USP). Farmacopea de los Estados Unidos de América. Monografía Fludesoxiglucosa F 18, Inyección. USP 40 NF-35 ed. Vol. 2. 4673.
- [11]. LOVELESS VS. Quality control of compounded radiopharmaceuticals. The University of New Mexico Health Sciences Center, 2009. Disponible en: https://pharmacyce.unm.edu/nuclear_program/freelessonfiles/vol15lesson3.pdf.

Recibido: 12 de enero de 2022

Aceptado: 24 de febrero de 2022

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses en la realización, ni la comunicación del presente trabajo.

Credit/Conceptualización: Dianisleidys Gómez García, Leonardo García Reyes, Aily Aguiar Agramonte, Mayka Guerrero Cancio. **Fuentes:** Dianisleidys Gómez García Leonardo García Reyes, Aily Aguiar Agramonte, Mayka Guerrero Cancio. **Software:** Dianisleidys Gómez García. **Análisis formal:** Dianisleidys Gómez García Leonardo García Reyes, Aily Aguiar Agramonte. **Supervisión:** Dianisleidys Gómez García Leonardo García Reyes, Aily Aguiar Agramonte, Mayka Guerrero Cancio. **Validación:** Dianisleidys Gómez García, Reynier Espinosa Torres, Yordanka Martínez Almaguer, Leonardo García Reyes, Aily Aguiar Agramonte, Lissette Gutiérrez Hernández, Henry Reyes Pérez, Yurilma González Valdez, Hortensia Morales Arranz. **Investigación:** Dianisleidys Gómez García, Leonardo García Reyes, Aily Aguiar Agramonte. **Visualización:** Dianisleidys Gómez García, Leonardo García Reyes, Aily Aguiar Agramonte. **Metodología:** Dianisleidys Gómez García, Leonardo García Reyes, Aily Aguiar Agramonte, Yordanka Martínez Almaguer. **Escritura – borrador original:** Dianisleidys Gómez García. **Redacción: revisión y edición:** Dianisleidys Gómez García Yordanka Martínez Almaguer, Leonardo García Reyes, Mayka Guerrero Cancio.