

# ***Evaluación de complejos de Anfotericina b y $^{99m}\text{Tc}$ en el diagnóstico de infecciones fúngicas mediante centellografía gamma***



**Leticia Fernández; Mariella Terán**

Área Radioquímica, Facultad de Química, UdelaR

*lfernandez@fq.edu.uy*



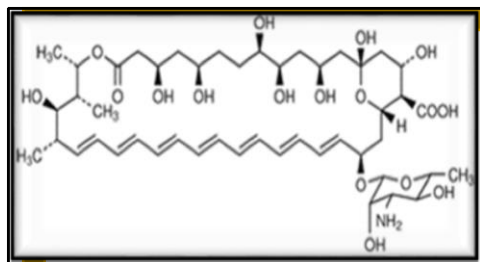
# ***Epidemiología de las micosis profundas***



El diagnóstico y tratamiento de las micosis profundas representa un desafío para los médicos que tratan pacientes inmunodeprimidos ya que la morbi-mortalidad por estas infecciones también se ha incrementado

# Objetivo

## Desarrollo de compuestos de coordinación entre $^{99m}\text{Tc}$ y Anfotericina b y su evaluación como potenciales trazadores de infecciones fúngicas por centellografía gamma.



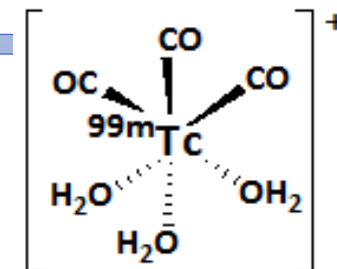
Anfoterina b

La estructura de polieno le permite formar complejos con esteroides, creando poros en la membrana celular.



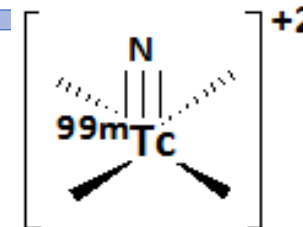
El aminoglucósido polar se orienta hacia la superficie, con los grupos hidroxilo hacia el centro del canal.

- Tc(I)
- Grupos carbonilo estabilizan el bajo estado de oxidación
- Geometría octaédrica



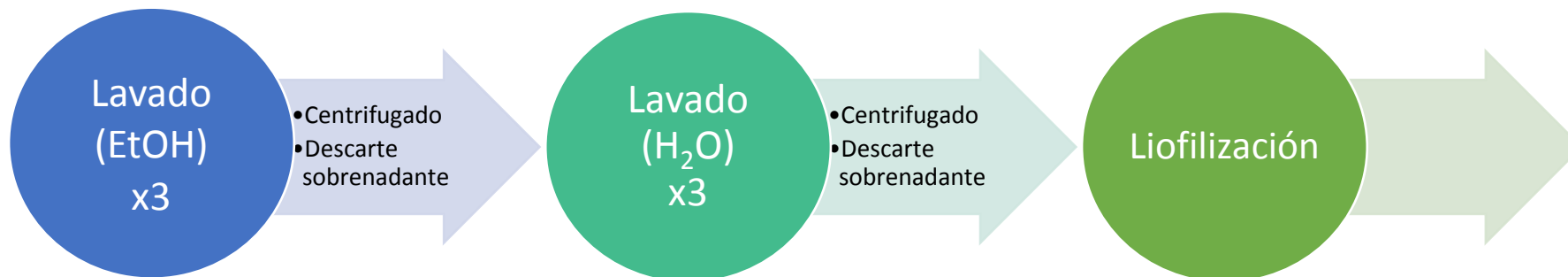
Precursor Tricarbonilo

- Tc(V)
- 4 posiciones de coordinación
- N<sup>3-</sup> donador  $\pi$  fuerte, estabiliza metales en estados de oxidación altos

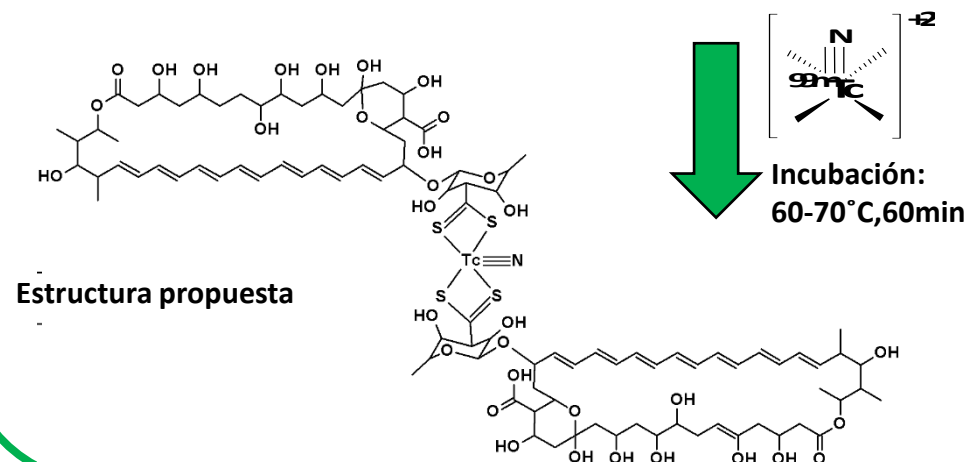
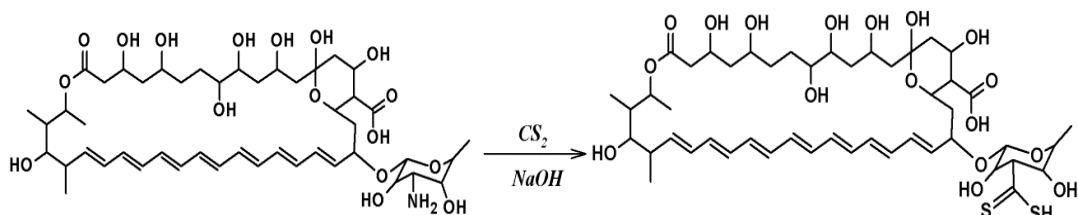


Precursor Nitrido

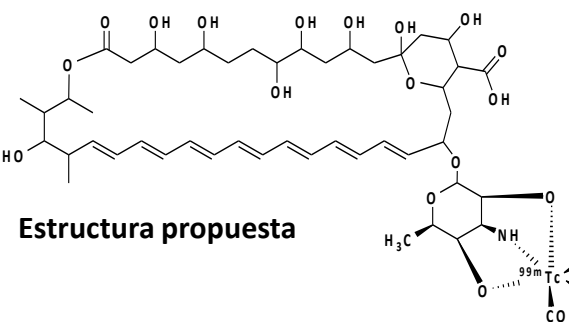
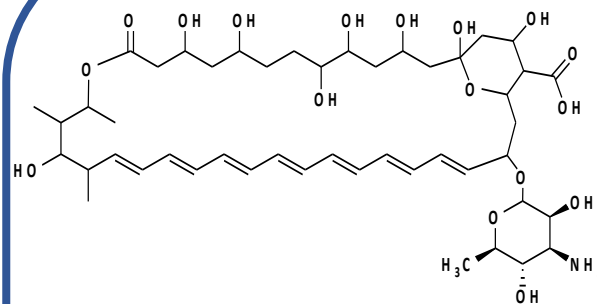
# Marcación



## Síntesis [<sup>99m</sup>Tc-N](SS)-Anfotericina



## Síntesis <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-Anfotericina



Incubación:  
40°C, 30min

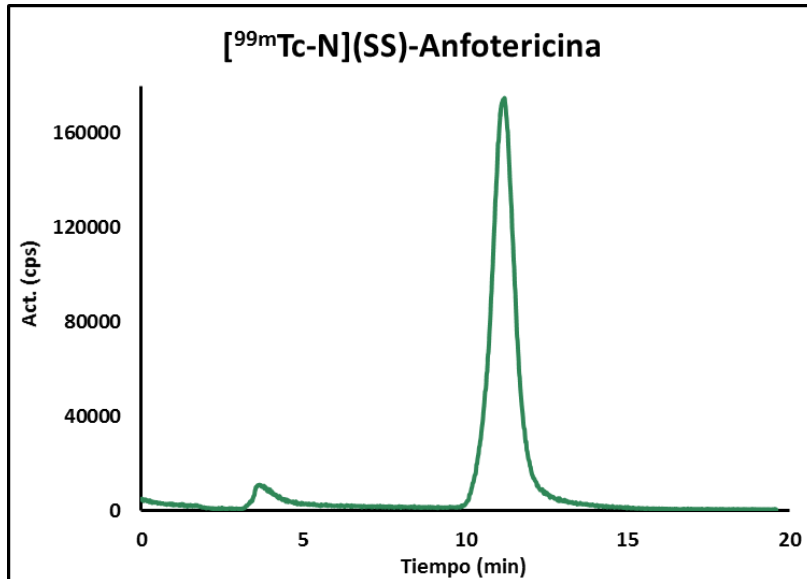
**PURIFICACIÓN**

# ***Evaluación Fisicoquímica***

---



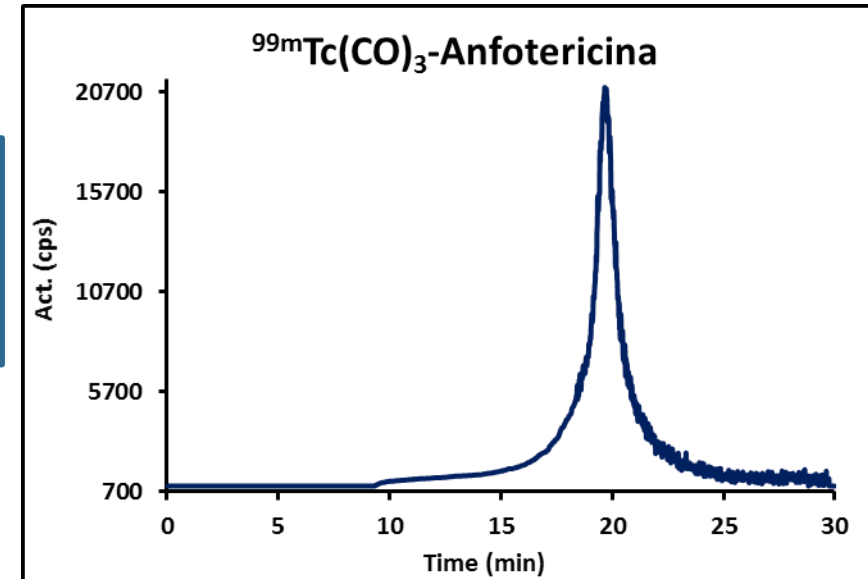
# Control Cromatográfico



Columna Waters C-18 10 $\mu$ m  
 Flujo: 1mL/min; Temperatura: ambiente  
 Fase móvil A: TFA 0.1% en H<sub>2</sub>O. Fase móvil B: TFA 0.1% en Acetonitrilo. Gradiente: 0-10min, 100% A; 10-20min, 100 a 0% A; 20-24 min

## HPLC:

- Shimadzu LC-10AS
- ## Detector gamma:
- Parken



Columna Phenomenex C-18 Luna 5 $\mu$ m  
 Flujo: 1mL/min; Temperatura: ambiente  
 Fase móvil A: Buffer fosfato/trietilamina pH=2,5. Fase móvil B: metanol. Gradiente: 0-3 min, 100% A; 3-6 min, 100% a 75% A; 6-9 min, 75% a 66% A; 9-20 min, 66% a 0% A; 20-27 min, 0% A; 27-30 min, 0% a 100% A.

COMPLEJO	T. retención	Pureza radioquímica	Estabilidad
<i>[<sup>99m</sup>Tc-N](SS)-Anfotericina</i>	11.2min	≈95.0%	20hs
<i><sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-Anfotericina</i>	20.3min	≈98.0%	23hs

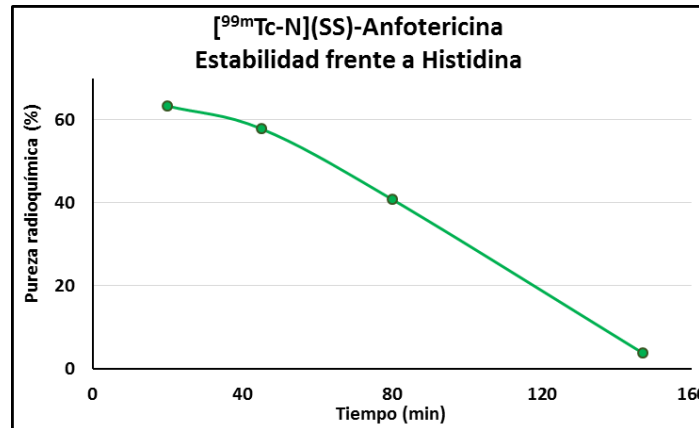
# Resultados Fisicoquímicos

E. Cisteína  
(30min)

- 5.8%
- 58.4%

E. Histidina  
(30min)

- 63.3%
- 17.4%



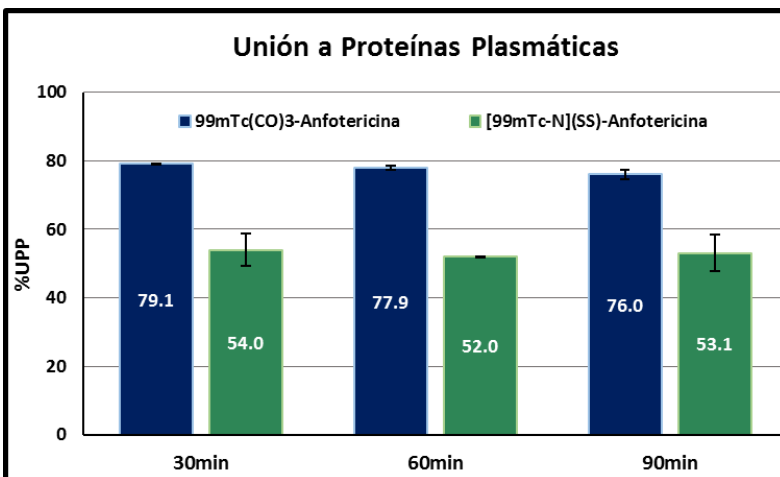
Lipofilicidad

- $-1.65 \pm 0.08$
- $-0.71 \pm 0.01$

E. Plasma

- $84.5 \pm 5.4\%$   
(3horas)
- Sin degradación

Unión a Proteínas Plasmáticas



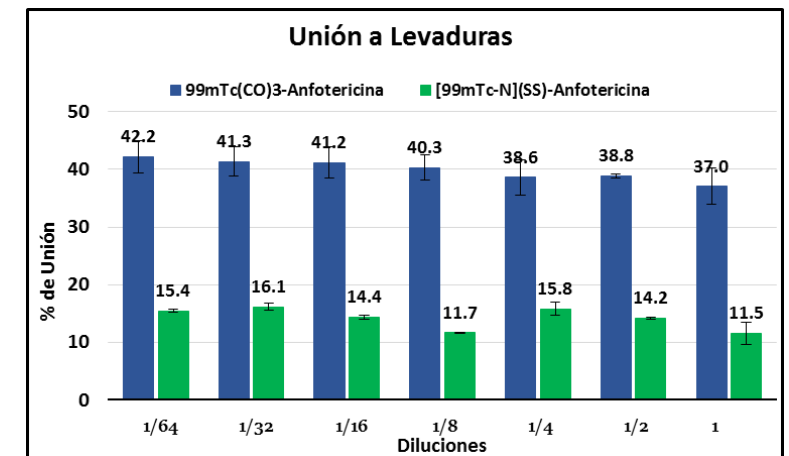
%UPP

- $(53.0 \pm 2.8)\%$
- $(77.6 \pm 0.5)\%$

%Unión a  
Levaduras

- $(14.2 \pm 1.9)\%$
- $(39.9 \pm 1.8)\%$

Unión a Levaduras



# Evaluación biológica $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Anfotericina}$

## Ratones:

Hembras CD1  
20-25 gramos  
8-10 semanas

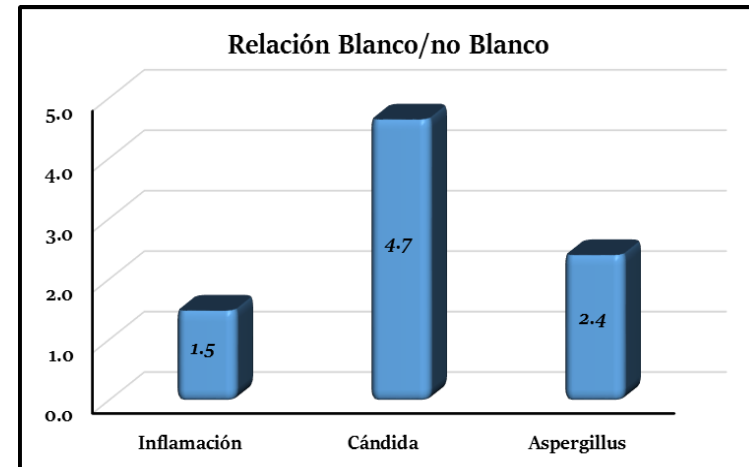
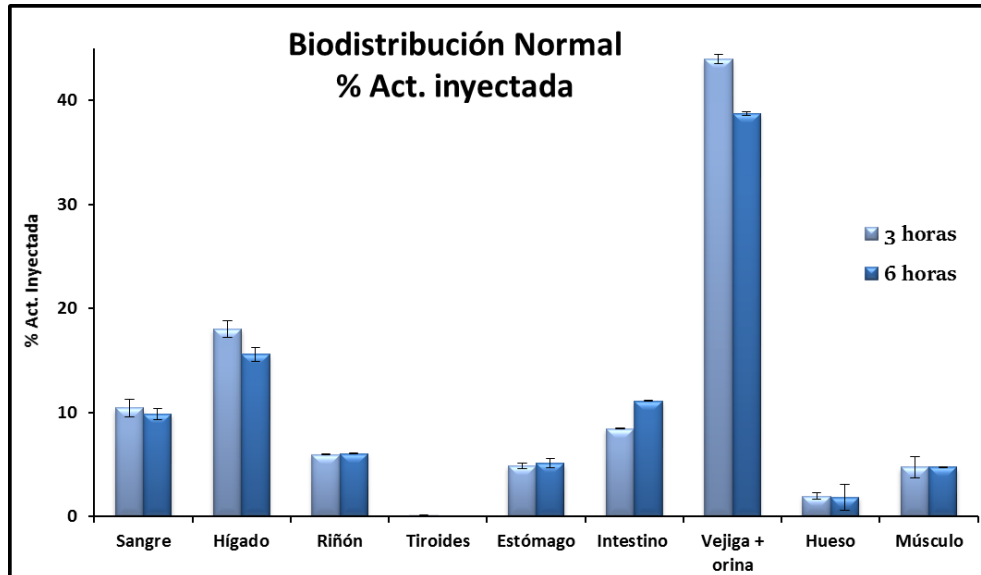
## T. Biodistribución:

3 y 6 Horas



## MODELOS

- G0= Sanos
- G1= Inflamación estéril
- G2= Infección por *Cándida albicans*
- G3= Infección por *Aspergillus niger*





# Conclusiones

Se logró la marcación de Anfotericina b con  $^{99m}\text{Tc}$ , a partir de los precursores Nitrido y Carbonilo, obteniéndose dos complejos con pureza radioquímica superior a 90%.

Los conjugados presentaron buena estabilidad en el tiempo y frente a plasma, pero baja estabilidad enfrentados a elevadas concentraciones de Cisteína e Histidina.

Ambos radiotrazadores resultaron hidrófilicos, con elevado porcentaje de unión a proteínas plasmáticas y unión a levaduras no dependiente de las ufc presentes.

In vivo  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -Anfotericina presento excreción renal preferencial, así como elevada acumulación en sitios de infección producidas por *Cándida albicans*.

**El complejo  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -Anfotericina puede ser considerado un candidato potencial para la formación de imágenes de infección por *Cándida albicans*, por medio de centellografía gamma.**

# Agradecimientos

---



PEDECIBA  
QUIMICA



Área  
Bioquímica  
FQ

## Bibliografía

---

1. L. Fernández, A.L. Reyes, A. Rey, M. Terán. *Estudio comparativo de complejos tricarbonílicos de fluconazol y voriconazol en infecciones fúngicas*. Alasbimn Journals. 2013.
2. A.L. Reyes, L. Fernández, A. Rey, M. Terán. *Development and Evaluation of  $^{99m}\text{Tc}$ -Tricarbonyl-Caspofungin as Potential Diagnostic Agent of Fungal Infections*. Current Radiopharmaceuticals. 2014; 7(2): 144-150.
3. Pasqualini R., Duatti A., Bellande E., et al. *Bis(Dithiocarbamato) NitridoTechnetium-99m Radiopharmaceuticals: A Class of Neutral MyocardialImaging Agents*. J. Nucl. Med. 1994;3:334-341.
4. Alberto R.; Schibili R.; Egli A.; Schubiger A.P. *A novel organometallic aqua complex of technetium for the labeling of biomolecules: Synthesis of  $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$  from  $[\text{}^{99m}\text{TcO}_4]^-$  in aqueous solution and its reaction with a bifunctional ligand*. J Am Chem Soc 1998; 120:7987-8.
5. A. Lemke . A. F. Kiderlen . O. Kayser. *Amphotericin b*. Appl Microbiol Biotechnol 2005; 68: 151–162.
6. W Becker, J Meller. *The role of nuclear medicine in infection and inflammation*. The Lancet Infectious Diseases. 2001;1,5: 326-333.

Muchas  
Gracias!

**Preguntas?**

