

Centellografía en el Desarrollo Farmacéutico: Estudios *In Vitro* e *In Vivo* de Comprimidos de Ranitidina

Mariella A. TERÁN¹, Andrea PAOLINO¹, Eduardo O. SAVIO¹, Javier P. GAUDIANO²,
Alba S. LEÓN¹ & Malcom FRIER³

¹ Cátedra de Radioquímica, Facultad de Química, Av. Gral Flores 2124,
CC 1157, CP 11800, Montevideo, Uruguay. ² Centro de Medicina Nuclear,
Hospital de Clínicas, Av. Italia s/n, CP 11800, Montevideo, Uruguay.

³ Radiopharmacy Unit, Medical Physics Department,
Queens Medical Centre, Nottingham NG7 2UH, UK.

RESUMEN. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la utilidad de los estudios centellográficos *in vitro* e *in vivo* en el desarrollo de una formulación farmacéutica. Se eligió como trazador del proceso el radiofármaco ^{99m}Tc-ácido dietilentriaminopentacético, que se incorporó a 4 formulaciones (F₁ a F₄) de comprimidos de ranitidina. Se llevaron a cabo estudios de estabilidad del radiofármaco en polvos, granulados y comprimidos. Las formulaciones en las cuales se verificó su estabilidad durante 24 h (F₂ y F₄) fueron utilizadas para ensayos *in vitro* de disolución y desintegración y estudios en 6 voluntarios sanos. La desintegración *in vitro* e *in vivo* fue monitoreada por centellografía gamma. El radiofármaco presentó diferentes cinéticas de disolución a partir de F₂ y F₄, siendo las respectivas constantes del mismo orden que para la ranitidina en cada formulación en estudio. La centellografía permitió establecer una correlación entre las constantes de desintegración *in vitro* e *in vivo*. Esto permitiría predecir el comportamiento en el tracto gastro-intestinal de cada formulación a partir de la desintegración *in vitro*. Los estudios centellográficos brindan información relevante con economía de tiempo en etapas de desarrollo.

SUMMARY. "Scintigraphy in Pharmaceutical Development Stage / *In vitro* / *In vivo* Studies of Ranitidine Tablets". Scintigraphic studies *in vitro* and *in vivo* were carried out to evaluate their utility in the development of pharmaceutical forms. A radiopharmaceutical (^{99m}Tc-dietilentriaminopentacetic acid) was incorporated as the tracer in four tablet formulations (F₁ to F₄) of ranitidine. Stability of the radiopharmaceutical with the excipients, granulates and tablets was assessed. Those formulations where the tracer verified stability during 24 hours (F₂ and F₄) were tested through dissolution and desintegration studies. Scintigraphic images were acquired in gamma camera after administration of ranitidine tablets to 6 healthy volunteers. The radiopharmaceutical showed different dissolution profiles from F₂ and F₄. The dissolution constants for ranitidine and the radiopharmaceutical had similar values in each formulation. A correlation between *in vitro*/*in vivo* desintegration was established. This would enable to predict gastro-intestinal transit from *in vitro* desintegration data. Scintigraphic studies give relevant information in short time during development stages of a pharmaceutical dosage.

INTRODUCCIÓN

Los estudios de desarrollo de nuevas formulaciones implican transitar etapas de evaluación en el laboratorio y aquellas que cumplan con una serie de requisitos se estudiarán en voluntarios. Las etapas de desarrollo son costosas durante el "screening" necesario de un conjunto de parámetros. Los aspectos económicos se multiplican al abordar los estudios *in vivo*. Por estos motivos cualquier metodología que aporte información relevante y permita abreviar las etapas de preformulación significa un ahorro de esfuerzos económicos, humanos y de tiempo. La centellografía gamma provee rápidamente información complementaria sobre la formulación

farmacéutica que no se puede obtener por otros medios. Esta técnica puede ser usada con éxito en etapas de desarrollo, desde estudios iniciales de factibilidad hasta la determinación de parámetros específicos del producto terminado. La información generada apoya la investigación y desarrollo, los protocolos en la etapa de registro y la promoción del producto.

La centellografía gamma es una técnica imagenológica utilizada en medicina nuclear que consiste en administrar al paciente un radiofármaco (trazador radiactivo del proceso en estudio) y monitorear externamente el tránsito y distribución del mismo en el organismo, obteniéndose información anatómica y funcional a partir

PALABRAS CLAVE: Desarrollo, Disolución, Forma Farmacéutica.

KEY WORDS: Development, Dissolution, Pharmaceutical Forms.

de la adquisición de imágenes estáticas y dinámicas. Esta técnica puede ser utilizada y validada en las etapas de desarrollo de formulaciones farmacéuticas si se incorpora a la misma un trazador radiactivo de propiedades físicas adecuadas para estudios *in vitro* e *in vivo*. La bibliografía reporta diversas aplicaciones de estudios con comprimidos ¹, cápsulas ², inhaladores ³, gotas oftálmicas ⁴ y supositorios ⁵.

El radiofármaco incorporado a los excipientes de la formulación permite cuantificar parámetros de disolución y desintegración de la formulación, así como de su cinética de biodistribución y determinar los sitios de liberación ⁶. Es importante la selección del radionucleido trazador, siendo el ^{99m}Tc el más usado debido a su óptima energía de emisión gamma de 140 Kev, lo que brinda una alta eficiencia en la adquisición de imágenes y su corto período de semidesintegración de 6 h, que es compatible con bajas dosis de radiación absorbidas por el voluntario ⁷.

Para que las formulaciones farmacéuticas que contienen componentes radiactivos puedan ser utilizadas en estudios centellográficos en voluntarios, deben fabricarse bajo los principios de GMP (Good Manufacture Practices). Sin embargo surgen problemas logísticos a la hora de introducir el radionucleido en la formulación. Las técnicas de incorporación del radionucleido varían en complejidad desde la simple manipulación física de los preparados a la fabricación total de los mismos. Es difícil conseguir áreas de producción industriales que tengan instalaciones adecuadas para el trabajo con material radiactivo, por este motivo se debe acotar el área de trabajo a sitios adecuadamente instalados para la manipulación de sustancias radiactivas.

Con esta metodología de estudio ha evolucionado una nueva disciplina, a la que se ha denominado *farmacocentellografía*. Mediante la combinación de técnicas farmacocinéticas y centellográficas se busca relacionar los niveles sanguíneos con la posición de la formulación farmacéutica en el tracto gastrointestinal. Esto ha permitido explicar las variaciones entre sujetos, identificar las ventanas de máxima absorción y examinar el efecto de los alimentos en el tracto gastrointestinal. La farmacocentellografía juega un rol importante en el estudio de la interrelación entre la fisiología y las formulaciones farmacéuticas ⁸⁻¹⁰.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la utilidad de los estudios centellográficos *in vitro* e *in vivo* en etapas de desarrollo de una

formulación farmacéutica. Para ello se eligió como trazador el radiofármaco hidrofílico ^{99m}Tc-ácido dietilentriaminopentaacético (^{99m}Tc - DTPA), que se incorporó a cuatro formulaciones en estudio (F₁ a F₄) de comprimidos de ranitidina. Se realizaron estudios de estabilidad del radiofármaco (RF) en las distintas etapas de fabricación. Se compararon los estudios *in vitro* de disolución y desintegración por centellografía con el comportamiento *in vivo* en voluntarios sanos mediante la adquisición de imágenes centellográficas seriadas y estáticas.

MATERIALES Y METODO

Formulación farmacéutica

Se estudiaron cuatro formulaciones farmacéuticas constituidas de la siguiente manera:

Formulación 1: Avicel 101, PVP K30, Ac-Di-Sol, Estearato de Magnesio.

Formulación 2: Almidón, Lactosa Anhidra, Ac-Di-Sol, PVP k30, Estearato de Magnesio.

Formulación 3: Almidón, Sacarosa, Dextrina, Estearato de Magnesio.

Formulación 4: Fosfato tricálcico, Almidón, Talco, Aceite mineral.

Formulación del "kit" de DTPA-Sn

El juego de reactivos que contiene 25,3 mg de la sal trisódica monocálcica del ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) y 2,0 mg de SnCl₂·5H₂O fue preparado en área aséptica de trabajo, bajo forma liofilizada y cerrado bajo vacío.

Obtención del radiofármaco

A un "kit" de DTPA-Sn se le adicionó el radionucleido de interés bajo forma de ^{99m}Tc O₄⁻ (740 MBq en 2 mL de solución fisiológica), obtenido de un generador Elumatic III (Cis, Francia). El agente reductor incorporado en la formulación lleva al ^{99m}Tc a estado de oxidación +5, formándose un complejo de coordinación con el DTPA, lo que constituye el RF. Se le realizaron controles cromatográficos para verificar que se obtuvo el RF con una pureza radioquímica superior al 95%, usando los siguientes sistemas: a) Papel Whatman N° 1 /acetona y b) Papel Whatman N° 1 / NaCl 0,9%.

Fabricación de los comprimidos

Los comprimidos se prepararon mediante granulación por vía húmeda. La humectación de los polvos se hizo con la solución del radiofármaco preparada según se describe en el párrafo anterior. La masa húmeda se granuló por extru-

sión a través de malla de acero inoxidable N° 14. El granulado se secó a estufa a 70 °C durante 10 min. Posteriormente se tamizó por malla N° 16 y se agregó el lubricante y el desintegrante.

Estudio de estabilidad del radiofármaco con excipientes y en las formulaciones

Se realizaron estudios de estabilidad del RF en presencia de cada excipiente en forma individual y en cada uno de los diferentes granulados (F₁, F₂, F₃ y F₄), tomándose como referencia la estabilidad del RF en el vial de preparación (blanco) en las mismas condiciones y durante igual período. Las muestras se sometieron al proceso de humectación, granulado y secado. Tanto las muestras en estudio como el blanco se resuspendieron en una solución salina para sembrar las cromatografías de control utilizando los sistemas antes descritos (*cf.* "Obtención del radiofármaco") y Sephadex G25 / NaCl 0,9%. Con aquellas formulaciones que resultaron estables se fabricaron comprimidos cilíndricos de 10 x 4 mm y un peso promedio 420 mg en una máquina de comprimir excéntrica.

Controles de los comprimidos

Se realizaron los siguientes controles: uniformidad de peso según USP XXIII y aspecto y medida de la actividad incorporada con el radiofármaco utilizando un calibrador de dosis CAPINTEC CRC 25.

Estudio de disolución

El test de disolución se realizó en equipo VANKEL USP tipo II a una temperatura de 37 °C y una velocidad de agitación de las paletas de 50 rpm. El medio de disolución usado fue agua, previamente filtrada y desaereada. El volumen total del medio de disolución fue de 900 mL, extrayendo muestras de 3 mL a tiempos de muestreo prefijados en 1, 2, 3, 5, 10, 15, 30 y 45 min. Dichas muestras se pasaron a través de filtros de acetato de celulosa de 0,22 µm de poro. En las mismas se determinó la concentración de actividad del RF (por determinación de las cuentas por unidad de tiempo en equipo de centelleo sólido Ortec-Maestro MCB1) y de la ranitidina mediante técnica espectrofotométrica a 314 nm (Shimadzu-Baush & Lomb Spectronic 210 UV).

Estudio de estabilidad del RF en el medio de disolución

Se realizó por seguimiento cromatográfico en los sistemas descritos en "Obtención del radiofármaco".

Estudios centellográficos

In vitro

A los comprimidos de las formulaciones F2 y F4 se le realizaron estudios centellográficos in vitro. El equipo de disolución, con el medio termostatzado, se enfrentó al detector de la gamma cámara. La cinética se llevó a cabo en condiciones sink, emitiendo el comprimido radiactividad que fue detectada en la gamma cámara; luego de sucesivas transformaciones se obtuvo un registro computarizado. Se trabajó en una gamma cámara DYNA (Picker) 4/15, de campo circular con colimador de energías bajas y alta resolución, con una ventana de 20% centrada en 140 KeV (fotopico del 99m Tc) y detector de centelleo sólido con cristal de NaI(Tl).

Se adquirieron imágenes seriadas durante 45 min a razón de un cuadro cada 30 seg, con una matrix de 128 x 128, sin zoom de adquisición. Se delimitaron áreas de interés sobre el comprimido y el vaso que contiene el medio de disolución. También se realizó fuera del vaso el conteo de actividad a los efectos de determinar la radiación de fondo del ambiente ("background"). Se generaron curvas a partir de las áreas estudiadas, graficándose la actividad en función del tiempo.

In vivo

Las formulaciones seleccionadas se estudiaron en 6 voluntarios sanos (3 hombres y 3 mujeres) cuyo peso promedio fue de 61 ± 11 kg, con una edad promedio de 36 ± 3 años. El protocolo tuvo en cuenta la Declaración de Helsinki para investigaciones biomédicas así como las resoluciones de la XXIX y XXXV Asamblea Mundial de Medicina. Los comprimidos fueron administrados con 200 mL de agua, luego de un ayuno de 8 h. La actividad promedio de los comprimidos fue de 14,8 MBq y las imágenes fueron adquiridas en equipo Sophy Camera de campo rectangular de 21,2 x 15,7" con cristal de NaI(Tl) de 3/8" y 96 fotomultiplicadores. Se adquirieron imágenes seriadas durante 45 min a razón de un cuadro cada 30 seg, con una matrix de 128 x 128, sin zoom de adquisición. Se delimitaron áreas de interés sobre estómago e intestino. También se realizó conteo de actividad fuera de las áreas mencionadas a los efectos de descontar el "background". Los voluntarios permanecieron de pie durante el lapso de realización del estudio. Las curvas de actividad en función del tiempo permitieron determinar las constantes de velocidad de vaciamiento gástrico utilizando un modelo compartimental por el método de las residuales.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se ha elegido como trazador del proceso de desarrollo de las formulaciones al radiofármaco $^{99m}\text{Tc-DTPA}$, de carácter hidrofílico, cuya incorporación durante la fabricación de los comprimidos permite distribuirlo homogéneamente en los mismos. Previo a su incorporación en las formulaciones en estudio se chequea su pureza radioquímica, siendo ésta superior al 99% en todos los marcados realizados.

Es posible que las etapas de fabricación y estudios coordinados en voluntarios impliquen hasta 24 h, por lo que se exige que el radiofármaco sea estable en contacto con los excipientes durante dicho lapso de tiempo. Si bien el $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ permanece incambiado durante 24 h post marcado, así como en contacto con cada excipiente en forma individual, cuando se mezclan estos excipientes según cada formulación estudiada, la estabilidad del RF presenta variaciones. Se constató descomposición del RF a

$^{99m}\text{TcCO}_4^-$ en las formulaciones F_1 y F_3 del orden del 20%. Por este motivo se selecciona las formulaciones F_2 y F_4 para estudios in vivo. Las formulaciones 2 y 4 de ranitidina verifican los requisitos de disolución establecidos en la USP XXIII, mayor del 80% en 45 min.

Es importante constatar si el trazador no se ve afectado en las condiciones del estudio de disolución, lo cual fue comprobado para las formulaciones ya seleccionadas previamente.

La Figura 1 muestra los porcentajes de disolución de ranitidina y del RF hasta 45 min para F_2 y F_4 a pH 7. Los porcentajes máximos de disolución del trazador (cuantificado en contador de centelleo sólido) alcanzaron valores menores que para el principio activo. Esto se debe a que el RF quedó fuertemente adsorbido sobre los excipientes tras el proceso de fabricación, verificándose que el remanente no liberado a la solución quedó retenido en el filtro de acetato de celulosa.

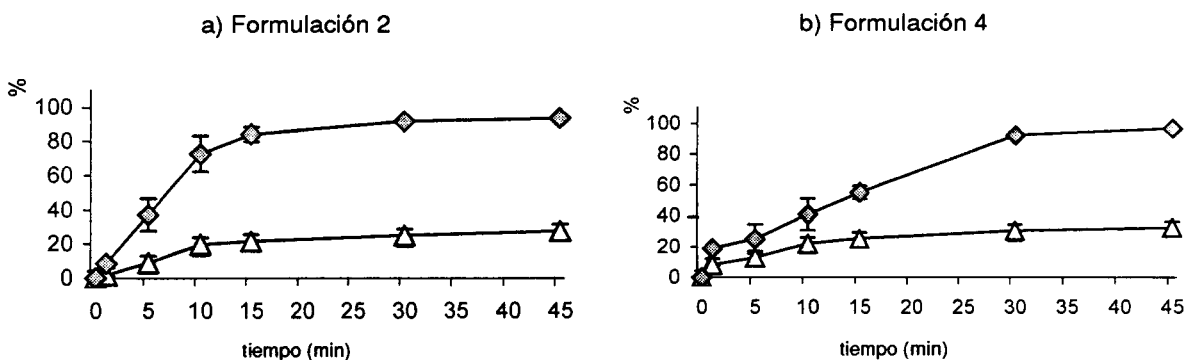


Figura 1. Porcentajes de disolución del trazador $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ y del principio activo ranitidina para las Formulaciones 2 (a) y 4 (b). (Δ) trazador, (\diamond) ranitidina.

La Figura 2 muestra las constantes de velocidad de disolución del RF y del principio activo en F_2 y F_4 . Los valores correspondientes al trazador en ambas formulaciones difieren en un 16%, lo cual muestra sensibilidad del método frente a variaciones de excipientes de las formulaciones, teniendo en cuenta además el fenómeno de adsorción registrado. Las constantes de disolución de ranitidina de F_4 y F_2 difieren en un 45%.

En la Figura 3 se muestran las curvas de desintegración en función del tiempo adquiridas por técnica centellográfica, mostrando un comportamiento cualitativamente similar a la ranitidina en ambas formulaciones. Los estudios centellográficos posibilitan adquirir imágenes cada cierto lapso de tiempo prefijado, sin necesidad de extraer muestras. Durante el estudio de desintegración se adquirieron imágenes cada 30

seg a lo largo de 45 min, por lo que sin necesidad de extraer muestras se construye la curva de desintegración con un número importante de datos de la cinética (90 puntos) de cada formulación en estudio.

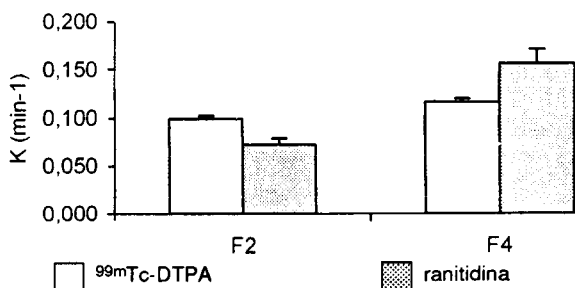


Figura 2. Constantes de velocidad de disolución del radiofármaco y del principio activo en las Formulaciones 2 y 4.

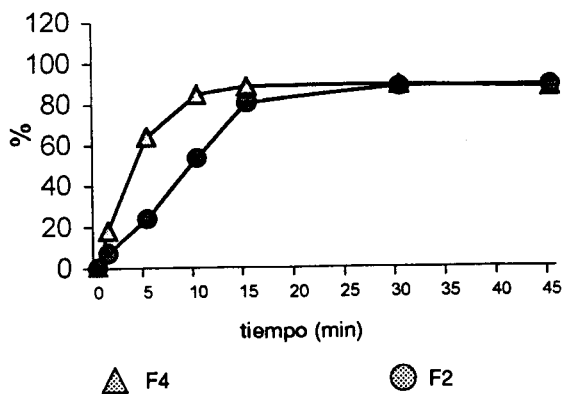


Figura 3. Perfiles de desintegración de las formulaciones F₂ y F₄ adquiridos por centellografía.

En la Figura 4 se observan imágenes centellográficas en un estudio dinámico adquiridas a los 0, 15, 30 y 45 min post administración de comprimidos F₂ y F₄ de ranitidina en un voluntario. Si se analizan imágenes en color, las zonas de menor conteo de actividad corresponde al azul y a medida que la actividad aumenta pasa por el rojo, amarillo y blanco para las zonas de mayor conteo, que son aquéllas que se pueden apreciar en las Figuras 4 y 6 en escala de grises. Se puede apreciar el tránsito en el tracto gastrointestinal de ambos comprimidos, zonas de liberación, tiempos de permanencia en estómago y de ingreso a duodeno.

Voluntario	K de vaciamiento gástrico F ₂ (min ⁻¹)	K de vaciamiento gástrico F ₁ (min ⁻¹)
1	0.01	0.002
2	0.02	0.004
3	0.01	0.04
4	0.002	0.04
5	0.05	0.09
6	0.03	0.11
Promedio	0.020 ± 0.016	0.05 0 ± 0.046
K _{desintegración (in vitro)}	0.071 ± 0.003	0.126 ± 0.005

Tabla 1. Constantes de velocidad de vaciamiento gástrico en voluntarios normales tras la administración

No se detectó actividad en pool sanguíneo ni en órganos de eliminación a través de las imágenes adquiridas en gamma cámara y la actividad medida en muestras de orina es del orden del background, lo cual permitió verificar que el radiofármaco no ingresa sistémicamente.

Los valores de actividad en estómago en función del tiempo mostraron un mejor ajuste a un modelo monocompartmental, siendo los tiempos de vaciamiento gástrico de 35 min para F₂, mientras que para la F₄ este tiempo fue de 14 min (n=6) según se observa en la Figura 5.

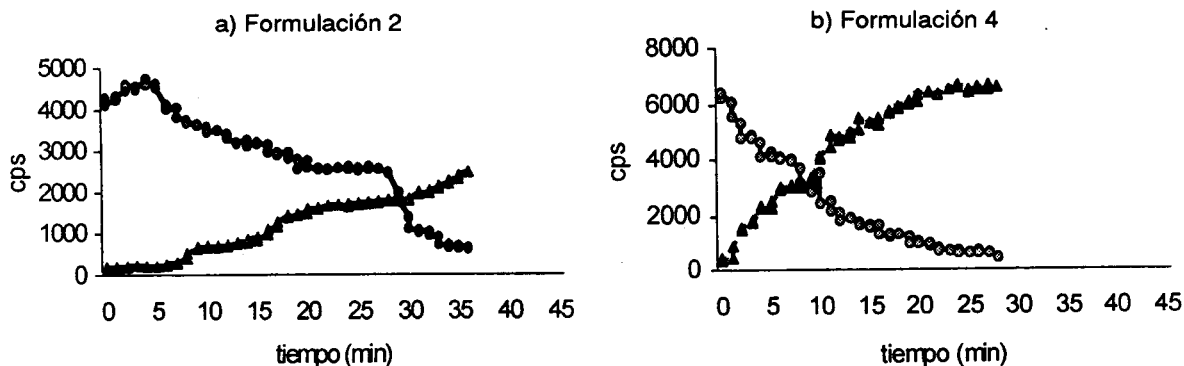


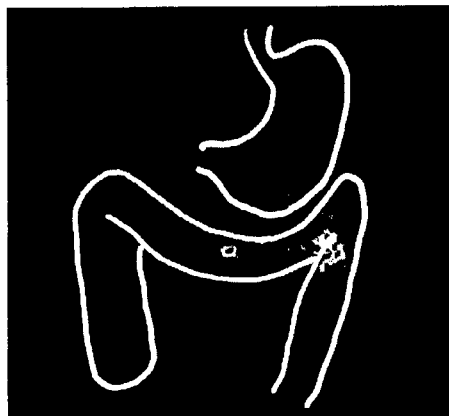
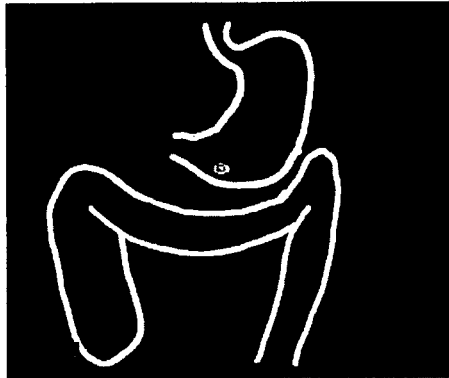
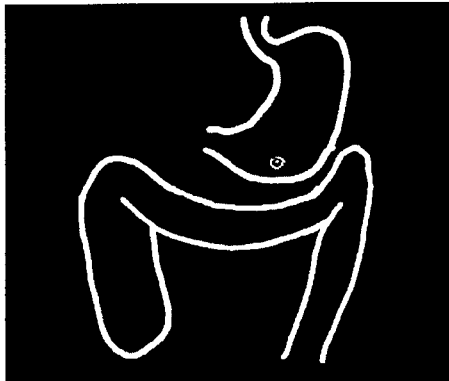
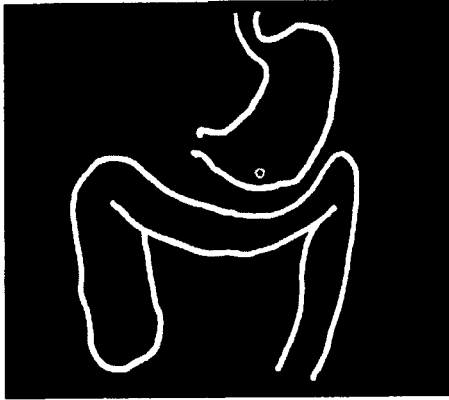
Figura 5. Actividad en estómago e intestino en función del tiempo para las Formulaciones 2 (a) y 4 (b). (O) Estómago, (Δ) Intestino.

La Figura 6 muestra imágenes estáticas 2 h post-administración de la formulación 4, que permitieron apreciar la gran variabilidad entre los voluntarios, lo que se corrobora en la Tabla 1 con las constantes de vaciamiento gástrico para las formulaciones 2 y 4 en cada uno de los mismos.

El cociente entre las constantes de velocidad de desintegración in vitro /in vivo es de 3,5

± 0,1 (p<0,01) y 3,5 ± 0,2 (p<0,01) para las formulaciones 2 y 4, respectivamente. Más allá de la amplia variabilidad inter individuo, los estudios centellográficos permitirían predecir el comportamiento en el tracto gastrointestinal, conociendo el perfil de desintegración in vitro independientemente de la formulación en estudio para los comprimidos de ranitidina.

Formulación 2



Formulación 4

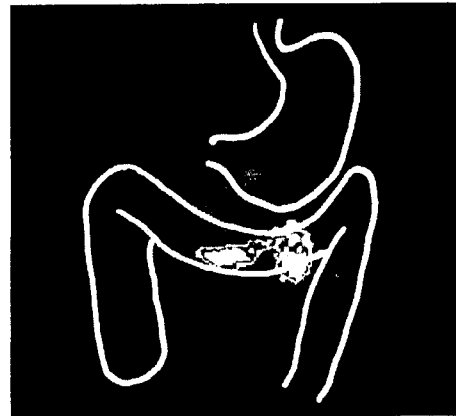
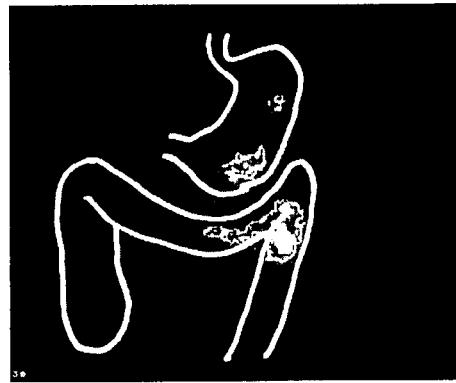
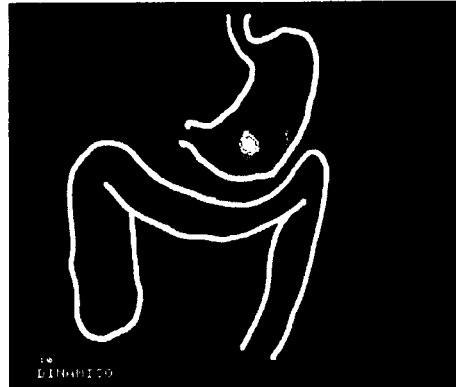
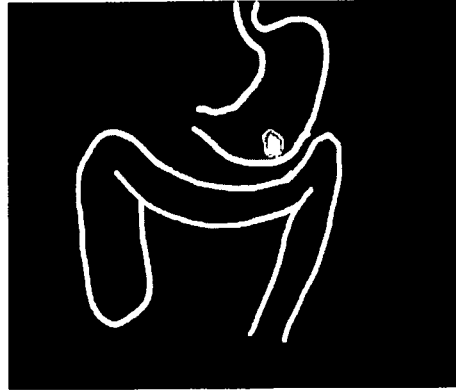
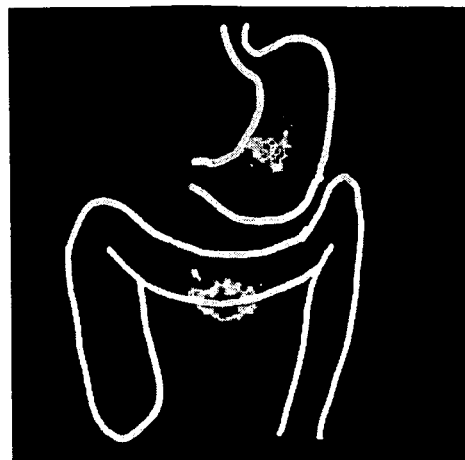


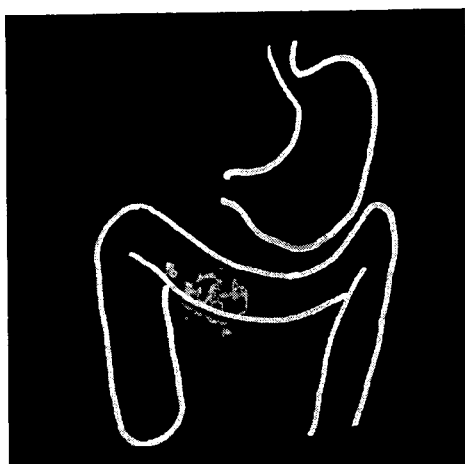
Figura 4. Imágenes centellográficas de estudio dinámico a los 0, 15, 30 y 45 min post administración del comprimidos F₂ y F₄ en un voluntario.



Voluntario 1



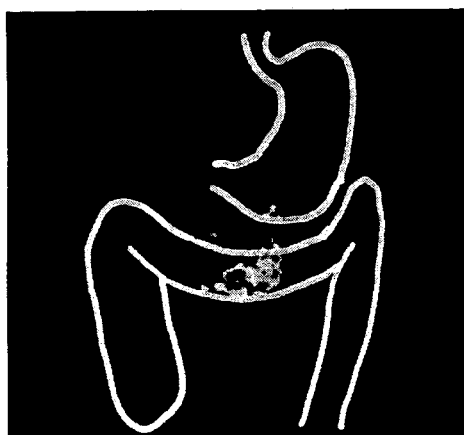
Voluntario 4



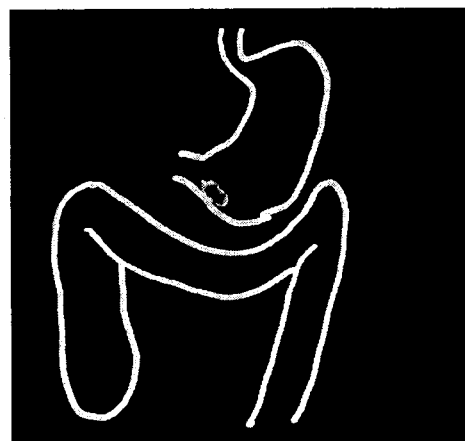
Voluntario 2



Voluntario 5



Voluntario 3



Voluntario 6

Figura 6. Imágenes tardías a las 2 h post administración de comprimidos F₄ en 6 voluntarios.

CONCLUSIONES

Es necesario validar el uso de cada radiofármaco en una aplicación en concreto, ya que debe tenerse presente que es el radiofármaco adicionado a la formulación el que actúa como trazador y no el principio activo.

El radiofármaco evaluado no es un trazador adecuado para el estudio de la cinética de disolución de las formulaciones de ranitidina. Sin embargo los estudios centellográficos permitieron establecer una correlación in vitro/in vivo para cada formulación evaluada.

El presente estudio permitió verificar que a pesar de la gran variabilidad interindividuo en el tránsito gastro-intestinal, las imágenes centellográficas suministran información relevante para modelizar con economía de tiempo y recursos materiales, con una dosis de radiación absorbida muy baja que no implica riesgos para la sa-

lud del operario ni del voluntario.

Futuros estudios permitirán caracterizar otros radiofármacos y delimitar la potencialidad y limitaciones de su uso en el desarrollo farmacéutico.

Agradecimientos. Los estudios incluidos en este trabajo fueron realizados en el marco del proyecto "Caracterización de radiofármacos como modelos de fármacos para estudios centellográficos de formulaciones farmacéuticas", financiado por la Comisión Sectorial de Investigación Científica de la Universidad de la República (CSIC/UR). Para llevar a cabo dichas actividades se requiere personal capacitado en tecnología farmacéutica, radiofarmacia y medicina nuclear, el cual pertenece a las instituciones participantes. Nuestro agradecimiento, en consecuencia, a la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC/UR), al Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas (PEDECIBA), al Centro de Investigaciones Nucleares - Facultad de Ciencias, a Laboratorios Celsius S.A y a Laboratorio Gramón-Bagó de Uruguay.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Maublent, J.C., M.Sournac, J.M. Aiache & A. Veyre (1987) *J. Nucl. Med.* **28**: 1199-203
2. Davies, S.S., J.G. Hardy, S.P. Neumann & I.R. Wilding (1992) *Eur. J. Nucl. Med.* **19**: 971-86
3. Davies, S.S., J.G. Hardy, S.P. Neumann & I.R. Wilding (1996) *Int. J. Pharm.* **142**: 129-33
4. Meseguer, G., R. Gurny, P. Buri, A. Rozier & B. Plazonnet (1993) *Int. J. Pharm.* **95**: 229-34
5. Hardy, J.G., L.C. Feely, E. Wood & S.S. Davis (1987) *Int. J. Pharm.* **38**: 103-8
6. Wilson, C.G. & A.C. Perkins (1992) "Gamma Scintigraphy and the study of drug deposition". Academic Press, London, págs. 1-32
7. Terán, M., E. Savio, A. León & M. Frier (1999) Libro de resúmenes del XVI Congreso de la ALABIMN, 62, pág. 21
8. Perkins, A. & M.Frier (1999) "Nuclear Medicine in Pharmaceutical Research". Taylor & Francis, London, págs. 71-92
9. Cid Cárcamo, E. (1992) "Control de Calidad Biofarmacéutico de Alimentos", Chile, págs 66-112
10. Frier, M. & A.C. Perkins (1994) *Eur. J. Nucl. Med.* **21**: 1234-42
11. Wilson, G., M. Bakhshae, H.N.E. Stevens, A. Perkins, M. Frier, E.P. Blackshaw & J.S. Binns (1997) *Drug Delivery* **4**: 201-6
12. Sampson, C.B. (1999) "Textbook of Radiopharmacy, Theory and Practice". Third Edition. Gordon & Beach Science Publishers, Amsterdam, págs 125-74
13. Coupe, A.J., S.S. Davies, D.F. Evans & I.R. Wilding (1992) *Int. J. Pharm.* **78**: 69-76
14. Davies, S.S., C.Robertson & I.R. Wilding (1991) *Int. J. Pharm.* **92**: 167-75
15. Davies, N.M., S.J. Farr, I.W. Kelloway, G. Taylor & M. Thomas (1994) *Int. J. Pharm* **105**: 97-101
16. Perkins, A.C., C.Mann & G.G. Wilson (1995) *Eur. J. Nucl. Med.* **22**: 1035-8
17. Perkins, A.C. P.Yeorman, A.J. Hindle, R.M. Vincent, M.Frier, R.J. Winter & M.L. Wastic (1997) *Nucl. Med. Comm.* **18**: 262-8