



**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
“Autarquia associada à Universidade de São Paulo”

**Desenvolvimento de métodos para marcação de DMSA  
pentavalente com  $^{99m}\text{Tc}$  e  $^{188}\text{Re}$**

**TÂNIA DE PAULA BRAMBILLA**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações.

Orientador:

Dr. João Alberto Osso Júnior.

**São Paulo**  
**2009**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
“Autarquia associada à Universidade de São Paulo”

**Desenvolvimento de métodos para marcação de DMSA  
pentavalente com  $^{99m}\text{Tc}$  e  $^{188}\text{Re}$**

**TÂNIA DE PAULA BRAMBILLA**

Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do Grau  
de Mestre em Ciências na Área de  
Tecnologia Nuclear – Aplicações.

Orientador:

Dr. João Alberto Osso Júnior.

**São Paulo**  
**2009**

Dedico este trabalho aos meus pais Roberto e Dora, e  
aos meus avós paternos Herminio e Adalgiza  
(em memória)

## *Agradecimentos*

À Deus pela graça da vida.

Ao Dr. João Alberto Osso Júnior, que além de orientador é um grande amigo, por quem tenho profundo respeito e admiração. Agradeço primeiramente por ter me aceitado como aluna de mestrado e pela confiança em mim depositada. Agradeço também pelos ensinamentos transmitidos, pelo profissionalismo, competência, pela paciência, dedicação, atenção e sincera amizade, sempre me incentivando e me ajudando, e por contribuir no meu crescimento profissional e pessoal.

Aos funcionários do CR que contribuíram de alguma maneira na realização deste trabalho, principalmente à Cláudia Castanheira, Dulcila, Natanael e Nestor.

A Dra. Emiko Muramoto, pela ajuda e colaboração fornecidas na realização das imagens.

Aos colegas de pós-graduação do IPEN e bolsistas do CR pelas palavras de incentivo e pela ajuda nas dificuldades encontradas.

As minhas amigas do curso de Pós-Graduação, Kátia, Carla, Graciela e Giovana, pela ajuda em muitos momentos difíceis, obrigada pelo apoio e pela amizade sincera.

Aos meus pais, pelo amor, carinho e apoio ao longo de toda minha vida. Agradeço por terem me proporcionado condições para chegar até aqui.

As minhas grandes amigas Pryscila e Giceli, pelo apoio, incentivo e palavras de carinho.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a elaboração deste trabalho, quero expressar o meu mais sincero e profundo agradecimento.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, por possibilitar a realização deste trabalho.

A Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), que proporcionou a execução deste trabalho pela concessão de uma bolsa de estudo.

*“Tudo tem seu apogeu e seu declínio... É natural que seja assim; todavia quando tudo parece convergir para o que supomos o nada, eis que a vida ressurge, triunfante e bela!...Novas folhas, novas flores, na indefinida bênção do recomeço!...”*

*Francisco Cândido Xavier*

*“Claro que devemos tentar atingir a perfeição, desde que tenhamos na mente que ela é inatingível.”*

*Albert Einstein*

# Desenvolvimento de métodos para marcação de DMSA pentavalente com $^{99m}\text{Tc}$ e $^{188}\text{Re}$

Tânia de Paula Brambilla

## RESUMO

Tecnécio-99m é o radionuclídeo mais utilizado em procedimentos para imagem diagnóstica na Medicina Nuclear, mais de 80 % dos radiofármacos são compostos marcados com  $^{99m}\text{Tc}$ .  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) tem sido usado no diagnóstico de tumores de tecidos moles, cabeça e pescoço. Este radiofármaco tem uma alta especificidade para detecção de carcinoma medular de tireóide e metástase óssea em vários tipos de cânceres. Estudos de biodistribuição do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) tem mostrado que suas propriedades farmacocinéticas são similares ao do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V), então este agente poderia ser usado para terapia desses tumores. O objetivo desse trabalho é o desenvolvimento de métodos para marcação do DMSA(V) com  $^{99m}\text{Tc}$  e  $^{188}\text{Re}$ . O  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) pode ser preparado por dois métodos. Um dos métodos é o método indireto, que é através do kit comercial de DMSA(III), ajustando-se o pH de 2,5 para ~8,5 com  $\text{NaHCO}_3$ , que foi estudado e otimizado, apresentando bons rendimentos de marcação. O outro é o método direto, pelo preparo de um kit liofilizado de DMSA(V) pronto para marcação com  $^{99m}\text{Tc}$ , sendo o método de interesse do trabalho pela maior praticidade no uso clínico. A formulação mais adequada do método direto foi: 1,71 mg de DMSA, 0,53 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e 0,83 mg de ácido ascórbico (pH 9). Marcando-se esse kit com 1 a 2 mL de  $^{99m}\text{Tc}$ , com atividades de até 4736 MBq (128 mCi), e tempo instantâneo de reação, consegue-se rendimento de marcação maior que 95%. O kit liofilizado foi estável por até 6 meses e estudos de biodistribuição confirmaram a qualidade do DMSA (V) marcado com  $^{99m}\text{Tc}$  usando este kit. O potencial de redução do Re é mais baixo do que do Tc, com isso as condições de preparação do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) são diferentes das usadas para o  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V). O  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) é preparado em meio ácido, com isso é possível utilizar o kit comercial de DMSA(III) para marcação com  $^{99m}\text{Tc}$ , que apresenta pH 2,5, na preparação do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V). Com este método conseguiu-se rendimentos de marcação superiores a 95%, com tempo de reação de 30 minutos à 100 °C, utilizando no máximo 1 mL de  $^{188}\text{ReO}_4^-$ . Outro método de preparação do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) também foi estudado, através de um kit líquido contendo 2,5 mg de DMSA, 1,00 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 30 mg de oxalato de sódio e pH 5. Este kit marcado com 1 mL de  $^{188}\text{ReO}_4^-$ , com 15 minutos de reação à temperatura ambiente apresentou rendimento de marcação de aproximadamente 91%.

# Development of methods of labeling pentavalent DMSA with $^{99m}\text{Tc}$ and $^{188}\text{Re}$

Tânia de Paula Brambilla

## ABSTRACT

Technetium-99m is the most useful radionuclide in diagnostic imaging procedures in Nuclear Medicine, more than 80 percent of radiopharmaceuticals are  $^{99m}\text{Tc}$ -labeled compounds.  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) has been used for imaging of soft tissue, head and neck tumors. It shows a particularly high specificity for medullary thyroid carcinoma and bone metastases in a variety of cancers. Biodistribution studies of  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) have shown that its general pharmacokinetic properties are similar to that of  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V), so this agent could be used for targeted radiotherapy of these tumors. The aim of this work is the development of methods of labeling DMSA(V) with  $^{99m}\text{Tc}$  and  $^{188}\text{Re}$ .  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) can be prepared by two methods. One of them is the indirect one, through the use of a commercial kit of DMSA (III), by adjusting the pH from 2.5 to ~8.5 with  $\text{NaHCO}_3$ . This method was evaluated and optimized presenting high labeling yields. The other method is the direct one, through the preparation of a lyophilized kit ready for labeling with  $^{99m}\text{Tc}$ , being the method of interest of this work, due to the easy of its clinical use. The most adequate formulation of the kit was: 1.71mg of DMSA, 0.53mg of  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  and 0.83 mg of ascorbic acid (pH 9). Labeling yields higher than 95% were achieved labeling this kit with 1 to 2 mL of  $^{99m}\text{Tc}$  with activities up to 4736 MBq (128 mCi). The kit was stable up to 6 months and biodistribution studies confirmed the quality of the DMSA (V) labeled with  $^{99m}\text{Tc}$  using this kit. The reduction potential of Re is lower than the one for Tc, so the labeling conditions of  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) are different from the ones used for  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V).  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) is prepared in acid solution, that makes it possible to use the DMSA (III) commercial kit developed for labeling with  $^{99m}\text{Tc}$ , prepared in pH 2.5, for labeling with  $^{188}\text{Re}$ . Labeling yields higher than 95% were achieved with this methodology, with a reaction time of 30 minutes at  $100^\circ\text{C}$  using no more than 1 mL of  $^{188}\text{ReO}_4^-$ . Another method of preparing  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) was also evaluated, using a liquid kit containing 2.5mg of DMSA, 1.00mg of  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  and 30mg of sodium oxalate at pH 5. This kit was labeled with 1 mL of  $^{188}\text{ReO}_4^-$ , with 15 minutes of reaction at room temperature resulting in a labeling yield of about 91%.



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
1.1. Medicina Nuclear.....	13
1.2. Diagnóstico em Medicina Nuclear.....	14
1.2.1. Técnicas de diagnóstico em medicina nuclear.....	15
1.2.1.1. Breve histórico.....	15
1.2.1.2. Tomografia por emissão de Pósitrons (PET).....	16
1.2.1.3. Tomografia Computadorizada por emissão de Fóton Único (SPECT).....	19
1.2.2. Radiofármacos para Diagnóstico.....	21
1.3. Terapia.....	23
1.4. Tecnécio.....	26
1.4.1. <sup>99m</sup> Tc-DMSA.....	29
1.5. Rênio.....	30
1.5.1. <sup>188</sup> Re-DMSA (V).....	31
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>33</b>
2.1. Preparação do <sup>99m</sup> Tc-DMSA (V).....	33
2.1.1. Formulação indireta.....	33
2.1.2. Formulação direta.....	36
2.2. Preparação do <sup>188m</sup> Re-DMSA(V).....	37
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>39</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>40</b>
4.1. Materiais.....	40
4.1.1. Infraestrutura e Equipamentos.....	40
4.1.2. Reagentes e solventes.....	40
4.1.3. Solventes e soluções.....	41
4.1.4. Outros.....	41
4.1.5. Animais.....	42
4.2. Métodos.....	42
4.2.1. Pureza radioquímica do <sup>99m</sup> Tc-DMSA (V).....	42
4.2.2. Preparação do kit DMSA (V) e marcação com <sup>99m</sup> Tc.....	46
4.2.2.1. Formulação Indireta.....	47
4.2.2.2. Formulação direta.....	47

4.2.2.2.1. Kit líquido.....	48
4.2.2.2.1.1. Solução mãe do kit líquido.....	48
4.2.2.2.1.2. Solução mãe do kit líquido preparada com solução de SnCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O congelada.....	49
4.2.2.2.2. Kit liofilizado.....	50
4.2.3. Controle biológico: imagem cintilográfica e biodistribuição do <sup>99m</sup> Tc-DMSA(V).....	51
4.2.4. Determinação de Sn(II) em kit liofilizado de DMSA(V) para marcação com <sup>99m</sup> Tc.....	54
4.2.5. Pureza radioquímica do <sup>188</sup> Re-DMSA (V).....	54
4.2.6. Preparação do <sup>188</sup> Re-DMSA (V) .....	54
4.2.6.1. Método I.....	55
4.2.6.2. Método II.....	55
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>57</b>
5.1. Pureza Radioquímica do <sup>99m</sup> Tc-DMSA (V).....	57
5.2. Preparação do kit DMSA (V) e marcação com <sup>99m</sup> Tc.....	62
5.2.1. Formulação Indireta.....	62
5.2.2. Formulação Direta.....	65
5.2.2.1. Kit Líquido.....	65
5.2.2.1.1. Solução mãe do kit líquido.....	69
5.2.2.1.2. Solução mãe do kit líquido preparada com solução de SnCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O congelada.....	73
5.2.2.2. Kit liofilizado.....	74
5.3. Controle biológico: imagem cintilográfica e biodistribuição do <sup>99m</sup> Tc-DMSA(V).....	80
5.4. Determinação de Sn(II) em kit liofilizado de DMSA(V) para marcação com <sup>99m</sup> Tc.....	82
5.5. Pureza radioquímica do <sup>188</sup> Re-DMSA(V).....	83
5.6. Preparação do <sup>188</sup> Re-DMSA (V) .....	86
5.6.1. Método I.....	86
5.6.2. Método II.....	90
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>93</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>95</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> - Métodos de produção e obtenção dos radionuclídeos.....	14
<b>TABELA 2</b> - Radioisótopos emissores de pósitrons e suas respectivas meias-vidas.....	17
<b>TABELA 3.</b> Radioisótopos emissores de fóton único e suas respectivas meias-vidas.....	21
<b>TABELA 4</b> - Radiofármacos de perfusão para diagnóstico clínico.....	22
<b>TABELA 5</b> - Radiofármacos específicos para diagnóstico clínico.....	23
<b>TABELA 6</b> - Radionuclídeos para terapia.....	25
<b>TABELA 7</b> - Radiofármacos para terapia.....	25
<b>TABELA 8</b> – Valor do $R_f$ das espécies encontradas na marcação do $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) em diferentes sistemas cromatográficos.....	43
<b>TABELA 9</b> - $R_f$ das espécies formadas na preparação do $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V).....	62
<b>TABELA 10</b> - Formulação dos kits liofilizados.....	74
<b>TABELA 11</b> - Resultados de biodistribuição do $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V).....	82
<b>TABELA 12</b> - Resultados da análise polarográfica para determinação de Sn(II) em lotes dos kits liofilizados de DMSA(V) para marcação com $^{99m}\text{Tc}$ .....	82
<b>TABELA 13</b> - $R_f$ das espécies formadas na preparação do $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V).....	86

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b> – Esquema de aniquilação pósitron-elétron e detecção em coincidência dos fótons gama.....	18
<b>FIGURA 2</b> – Equipamento de Tomografia por Emissão de Pósitron – PET/CT (Gemini/Philips).....	19
<b>FIGURA 3</b> – Equipamento de Tomografia por Emissão de Fóton Único – SPECT (Dual Head-E.CAM/ Siemens).....	20
<b>FIGURA 4</b> – Esquema de aquisição de imagem no SPECT.....	20
<b>FIGURA 5</b> - Esquema de decaimento do $^{99}\text{Mo}$ .....	27
<b>FIGURA 6</b> – Gerador de $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (IPEN-TEC).....	27
<b>FIGURA 7</b> – Ilustração do processo de eluição que ocorre no interior dos geradores de $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ produzidos pelo IPEN.....	28
<b>FIGURA 8</b> – Esquema geral da reação de oxi-redução e complexação para obtenção dos radiofármacos marcados com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ .....	29
<b>FIGURA 9</b> – Reação do processo de redução do Tc e complexação com o DMSA.....	29
<b>FIGURA 10</b> – Reação do processo de redução do Re e complexação com o DMSA.....	32
<b>FIGURA 11</b> – Representação da fita cromatográfica utilizada no controle da pureza radioquímica.....	44
<b>FIGURA 12</b> – Sistema de cromatografia em camada fina ascendente utilizado na determinação da pureza radioquímica da marcação do DMSA(V) com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ .....	45
<b>FIGURA 13</b> – Detector de Germânio hiper puro ( <i>Canberra</i> ) utilizado para medir a radiação dos segmentos das fitas cromatográficas.....	45
<b>FIGURA 14</b> – Gama câmara (Mediso, Nucline TH22, Hungria) e sistema de aquisição e processamento de imagens utilizada nas imagens dos ratos sadios <i>Wistar</i> com radiofármaco $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA(V).....	52
<b>FIGURA 15</b> - Calibrador de dose (Capintec) utilizado para medir a atividade dos órgãos dos ratos.....	53
<b>FIGURA 16</b> – Determinação do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA(V) na fita TLC-SG utilizando como solvente a mistura de n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$ (3:2:3).....	57
<b>FIGURA 17</b> – Determinação do $^{99\text{m}}\text{TcO}_2$ na fita TLC-SG utilizando como solvente a mistura de n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$ (3:2:3).....	58
<b>FIGURA 18</b> – Determinação do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA(III) na fita TLC-SG utilizando como solvente a mistura de n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$ (3:2:3).....	59
<b>FIGURA 19</b> – Determinação do $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ na fita TLC-SG utilizando como solvente a mistura de n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$ (3:2:3).....	59
<b>FIGURA 20</b> – Determinação do $^{99\text{m}}\text{TcO}_2$ na fita TLC-SG utilizando como solvente $\text{H}_2\text{O}$ .....	60
<b>FIGURA 21</b> – Determinação do radiofármaco $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA(V) na fita TLC-SG utilizando como solvente $\text{H}_2\text{O}$ .....	60
<b>FIGURA 22</b> – Determinação do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA(III) na fita TLC-SG utilizando como solvente $\text{H}_2\text{O}$ .....	61
<b>FIGURA 23</b> – Determinação do $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ na fita TLC-SG utilizando como solvente $\text{H}_2\text{O}$ .....	61
<b>FIGURA 24</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao pH do kit da formulação indireta.....	63
<b>FIGURA 25</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à ordem de adição do $\text{NaHCO}_3$ e do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ao kit de DMSA (III).....	64

<b>FIGURA 26</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à atividade do $^{99m}\text{Tc}$ .....	64
<b>FIGURA 27</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de reação na formulação indireta.....	65
<b>FIGURA 28</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à massa do agente redutor no kit líquido.....	66
<b>FIGURA 29</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao pH no kit líquido.....	67
<b>FIGURA 30</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à massa de DMSA no kit líquido.....	67
<b>FIGURA 31</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao volume de $^{99m}\text{TcO}_4^-$ no kit líquido.....	68
<b>FIGURA 32</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação a atividade de $^{99m}\text{Tc}$ no kit líquido.....	68
<b>FIGURA 33</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de reação do kit líquido.....	69
<b>FIGURA 34</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao kit preparado em 1,05 mL e ao preparado em uma solução mãe.....	71
<b>FIGURA 35</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação a presença do agente estabilizante no kit líquido.....	72
<b>FIGURA 36</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à filtração e nitrogenação da solução mãe no kit líquido.....	73
<b>FIGURA 37</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de congelamento da solução de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .....	74
<b>FIGURA 38</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à massa do agente redutor no kit liofilizado.....	75
<b>FIGURA 39</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao volume de $^{99m}\text{Tc}$ .....	76
<b>FIGURA 40</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação a atividade de $^{99m}\text{Tc}$ .....	76
<b>FIGURA 41</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de reação.....	77
<b>FIGURA 42</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de estocagem do kit (lote S-2).....	78
<b>FIGURA 43</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de estocagem do kit (lote C-1).....	78
<b>FIGURA 44</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de estocagem do kit (lote C-2).....	79
<b>FIGURA 45</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de estocagem do kit (lote C-3).....	79
<b>FIGURA 46</b> - Imagens cintilográficas do $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) preparado neste trabalho.....	81
<b>FIGURA 47</b> - Imagens cintilográficas do $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) preparado a partir do $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(III) pela rotina do IPEN.....	81
<b>FIGURA 48</b> - Determinação do $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) na fita TLC-SG utilizando acetona como solvente.....	83
<b>FIGURA 49</b> - Determinação do $^{188}\text{ReO}_4^-$ na fita TLC-SG utilizando acetona como solvente.....	84
<b>FIGURA 50</b> - Determinação do $^{188}\text{ReO}_2$ na fita TLC-SG utilizando acetona como solvente.....	84

<b>FIGURA 51</b> – Determinação do $^{188}\text{Re-DMSA(V)}$ na fita TLC-SG utilizando glicina como solvente.....	85
<b>FIGURA 52</b> – Determinação do $^{188}\text{ReO}_4^-$ na fita TLC-SG utilizando glicina como solvente.....	85
<b>FIGURA 53</b> – Determinação do $^{188}\text{ReO}_2$ na fita TLC-SG utilizando glicina como solvente.....	86
<b>FIGURA 54</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à temperatura da marcação.....	87
<b>FIGURA 55</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de reação.....	87
<b>FIGURA 56</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao volume do $^{188}\text{ReO}_4^-$ .....	88
<b>FIGURA 57</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de reação da amostra mantida em temperatura ambiente.....	89
<b>FIGURA 58</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de reação da amostra mantida em gelo seco.....	89
<b>FIGURA 59</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à massa do agente redutor.....	90
<b>FIGURA 60</b> - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à massa do DMSA.....	91
<b>FIGURA 61</b> – Ilustração do mecanismo de ação do oxalato na redução do $^{188}\text{ReO}_4^-$ .....	92

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Medicina Nuclear

A medicina nuclear é uma especialidade médica que utiliza radiofármacos para o diagnóstico e o tratamento de doenças <sup>[1]</sup>. Radiofármaco pode ser apenas um radionuclídeo como o <sup>133</sup>Xe, ou um composto químico marcado com um radioisótopo, como os compostos marcados com <sup>99m</sup>Tc <sup>[2]</sup>.

Os radionuclídeos usados para diagnóstico e terapia são produzidos artificialmente em reatores nucleares e aceleradores de partículas. Podem ser obtidos também em sistemas de geradores de radioisótopos, que permitem a utilização de radionuclídeos que possuem tempo de meia-vida física ( $t_{1/2}$ ) curto, a partir do decaimento de um radionuclídeo com  $t_{1/2}$  longo. Estes radionuclídeos de  $t_{1/2}$  longo são produzidos em reator ou ciclotron <sup>[3]</sup>.

Os requisitos básicos para que os radioisótopos sejam utilizados em medicina nuclear são:

- Tipos de emissão: raios gama ( $\gamma$ ) ou pósitrons ( $\beta^+$ ), para aquisição de imagem e radiação alfa ( $\alpha$ ) ou beta ( $\beta^-$ ), apropriadas para terapia;
- Meia-vida física compatível com os estudos a serem realizados;
- Disponibilidade rápida e baixo custo;
- Purezas radionuclídica, radioquímica e química adequadas;
- Baixa toxicidade;
- Capacidade de serem ligados ao composto desejado em reações estáveis.

A TAB.1 apresenta os métodos de produção e obtenção dos radionuclídeos.

TABELA 1 - Métodos de produção e obtenção dos radionuclídeos.

Fonte	Radionuclídeo	Reação nuclear
<b>Reator</b>	$^{131}\text{I}$	$^{235}\text{U}(\text{n},\text{f})^{131}\text{I}$ $^{130}\text{Te}(\text{n},\gamma)^{131}\text{Te} \xrightarrow{\beta^-} ^{131}\text{I}$
	$^{32}\text{P}$	$^{31}\text{P}(\text{n},\gamma)^{32}\text{P} / ^{32}\text{S}(\text{n},\text{p})^{32}\text{P}$
	$^{67}\text{Cu}$	$^{67}\text{Zn}(\text{n},\text{p})^{67}\text{Cu}$
	$^{177}\text{Lu}$	$^{176}\text{Lu}(\text{n},\gamma)^{177}\text{Lu}$
	$^{89}\text{Sr}$	$^{88}\text{Sr}(\text{n},\gamma)^{89}\text{Sr}$
	$^{186}\text{Re}$	$^{185}\text{Re}(\text{n},\gamma)^{186}\text{Re}$
	$^{153}\text{Sm}$	$^{152}\text{Sm}(\text{n},\gamma)^{153}\text{Sm}$
	$^{99}\text{Mo}$	$^{235}\text{U}(\text{n},\text{f})^{99}\text{Mo} / ^{98}\text{Mo}(\text{n},\gamma)^{99}\text{Mo}$
	<b>Acelerador/ Ciclotron</b>	$^{123}\text{I}$
$^{67}\text{Ga}$		$^{68}\text{Zn}(\text{p},2\text{n})^{67}\text{Ga}$
$^{111}\text{In}$		$^{111}\text{Cd}(\text{p},\text{n})^{111}\text{In}$
$^{201}\text{Tl}$		$^{203}\text{Tl}(\text{p},3\text{n})^{201}\text{Pb} \rightarrow ^{201}\text{Tl}$
$^{11}\text{C}$		$^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$
$^{13}\text{N}$		$^{16}\text{O}(\text{p},\alpha)^{13}\text{N} / ^{13}\text{C}(\text{p},\text{n})^{13}\text{N}$
$^{15}\text{O}$		$^{14}\text{N}(\text{d},\text{n})^{15}\text{O} / ^{15}\text{N}(\text{p},\text{n})^{15}\text{O}$
$^{18}\text{F}$		$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$
$^{124}\text{I}$		$^{124}\text{Te}(\text{d},2\text{n})^{124}\text{I}; ^{124}\text{Te}(\text{p},\text{n})^{124}\text{I}$
$^{211}\text{At}$		$^{207}\text{Bi}(\alpha,2\text{n})^{211}\text{At}$
$^{64}\text{Cu}$		$^{64}\text{Ni}(\text{p},\text{n})^{64}\text{Cu}$
<b>Gerador</b>	$^{99\text{m}}\text{Tc}$	$^{99}\text{Mo} \xrightarrow{\beta^-} ^{99\text{m}}\text{Tc}$
	$^{68}\text{Ga}$	$^{68}\text{Ge} \xrightarrow{\text{CE}} ^{68}\text{Ga}$
	$^{90}\text{Y}$	$^{235}\text{U}(\text{n},\text{f})^{90}\text{Sr} \xrightarrow{\beta^-} ^{90}\text{Y}$
	$^{188}\text{Re}$	$^{186}\text{W}(2\text{n},\gamma)^{188}\text{W} \xrightarrow{\beta^-} ^{188}\text{Re}$
	$^{212}\text{Bi}$	$^{228}\text{Th} \rightarrow \dots \rightarrow ^{224}\text{Ra} \rightarrow ^{212}\text{Pb} \xrightarrow{\beta^-} ^{212}\text{Bi}$
	$^{213}\text{Bi}$	$^{229}\text{Th} \rightarrow \dots \rightarrow ^{225}\text{Ac} \xrightarrow{\alpha} ^{221}\text{Fr} \xrightarrow{\alpha} ^{217}\text{At} \xrightarrow{\alpha} ^{213}\text{Bi}$

NOTA: TI – transição isomérica; CE – captura eletrônica; f – fissão; d – dêuteron; n – neutron; p – próton.

## 1.2. Diagnóstico em Medicina Nuclear

Os diagnósticos em medicina nuclear podem ser realizados por meio de ensaios radiométricos de duas maneiras: *in vitro* e *in vivo*.

Nos ensaios *in vitro*, chamados de radioimunoensaios (RIE), marca-se com substâncias radioativas um antígeno ou um anticorpo de interesse que vai competir com aquele encontrado na amostra biológica extraída do indivíduo, permitindo determinar quantidades significativas de biocomponentes, fazendo-se a medida da quantidade (atividade) de radionuclídeo presente ligado à amostra biológica. Neste caso, quando os radioisótopos não são utilizados *in vivo* não são chamados de radiofármacos [1].



O radioimunoensaio é um método sensível para quantificar quantidades muito pequenas de uma substância no sangue. Exemplos típicos são kits para medir os hormônios tireoideanos ou sexuais <sup>[1]</sup>.

Nos ensaios *in vivo*, um radiofármaco, independente da via de administração no paciente, irá se localizar na região de interesse, conforme a especificidade do exame.

A distribuição destas substâncias é detectada pela gama-câmara (detector de raios- $\gamma$ ), posicionada sobre o corpo do paciente, trazendo informações sobre a capacidade dos órgãos em concentrar, metabolizar e excretar tais substâncias. Este procedimento é chamado de cintilografia.

A evolução dos equipamentos e a introdução de novos radiofármacos para a realização dos exames aumentaram o campo de atuação e a sensibilidade diagnóstica deste método. Com isso, a cintilografia tornou-se um método de diagnóstico indispensável nos dias de hoje, pois é o único método que habilita médicos a detectar alterações na atividade molecular antes das mudanças estruturais se tornarem visíveis.

Assim, a medicina nuclear tem potencial para diagnóstico precoce, o qual pode ser especialmente útil no caso de doença maligna. Além disso, pesquisas rápidas de todo o corpo podem ser realizadas. Hoje, o desenvolvimento busca o entendimento dos processos biológicos e gera uma informação para a melhoria de diagnósticos de diferentes doenças.

### **1.2.1. Técnicas de diagnóstico em medicina nuclear**

#### **1.2.1.1. Breve histórico**

Por volta de 1949, cintilografias lineares da tireóide foram obtidas pela primeira vez com a utilização de contadores Geiger-Müller colimados e obtendo, ponto por ponto, uma idéia da distribuição da radioatividade no órgão <sup>[5]</sup>. Outro dispositivo disponível para aplicações clínicas de radionuclídeos era a sonda de cintilação simples, mas assim como os contadores Geiger-Müller, esse sistema também não permitia a localização espacial da radioatividade que emanava do corpo, apenas permitia uma contagem global grosseira <sup>[6]</sup>.

Em 1950, o sistema de sondas foi adaptado para um dispositivo eletromecânico chamado cintígrafo retilíneo <sup>[6]</sup>, construído por Benedict Cassen <sup>[7]</sup>.

Em 1951, o primeiro scanner de corpo inteiro, também chamado de câmara de cintilação gama ou gama-câmara, foi desenvolvido pelo físico Hal Anger <sup>[7]</sup>.

Na década de 60, uma série de diferentes versões de gama-câmaras foram propostas, no entanto, o refinamento e a sofisticação da Medicina Nuclear começaram nos anos 70, com a utilização de cristais com diâmetros maiores, e com a técnica de emissão tomográfica proposta por David E. Kuhl, em 1971. Nessa mesma época, o físico George Hounsfield introduziu a técnica de tomografia computadorizada. No final dos anos 70, gama câmaras tomográficas do tipo SPECT (*single photon emission computed tomography*) são desenvolvidas por R. Jaszczak e começam a se tornar populares nos diversos serviços de Medicina Nuclear. Em 1971, Ter-Pogossian desenvolve as câmaras de PET (*positron emission tomography*)<sup>[7]</sup>.

Devido à evolução tecnológica que a gama-câmara apresentou, o cintígrafo retilíneo acabou sendo substituído por essa outra tecnologia.

As gama-câmaras mais modernas existentes no mercado são as SPECT/CT e PET/CT. Esses equipamentos além de adquirirem imagens funcionais do corpo, também adquirem imagens anatômicas, devido ao sistema de tomografia computadorizada (CT) acoplado ao equipamento. Com isso, é possível realizar a fusão das duas imagens, apresentando assim a localização anatômica de determinada função.

A escolha da técnica a ser utilizada no diagnóstico está relacionada com o tipo de emissão eletromagnética e corpuscular do radionuclídeo durante seu decaimento radioativo.

#### **1.2.1.2. Tomografia por emissão de Póstrons (PET)**

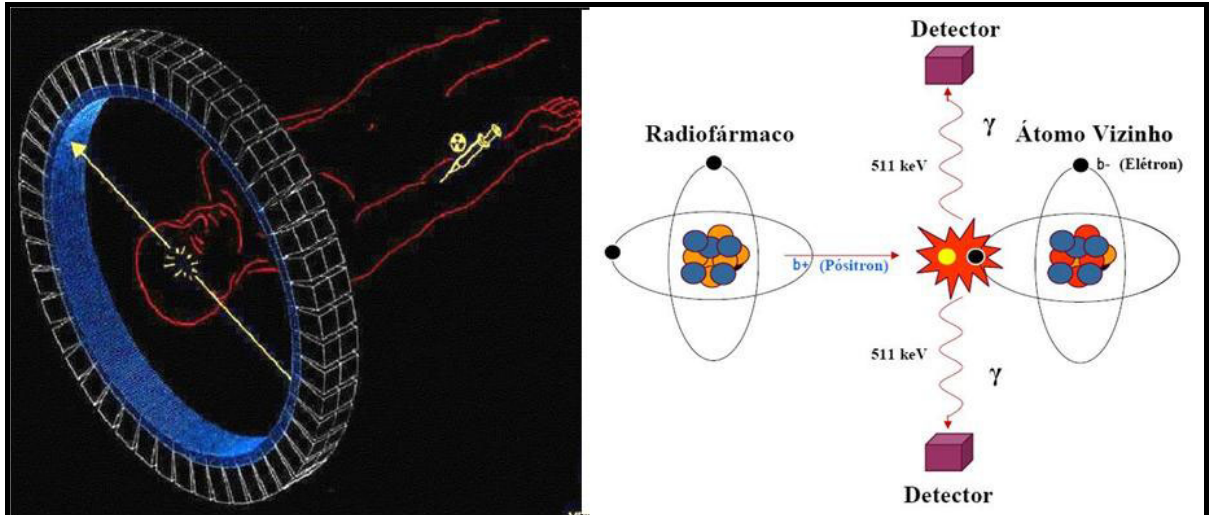
A tomografia por emissão de pósitrons (PET) é um método diagnóstico que cria imagens tridimensionais e tomográficas da distribuição no organismo de radioisótopos emissores de pósitrons. Alguns desses radioisótopos estão listados na TAB. 2, sendo o  $^{18}\text{F}$  o mais utilizado.

**TABELA 2.** Radioisótopos emissores de pósitrons e suas respectivas meias-vidas.

<b>Radioisótopos</b>	<b>Meia-Vida</b>
<sup>11</sup> C	20,4 min
<sup>13</sup> N	9,96 min
<sup>15</sup> O	2,07 min
<b><sup>18</sup>F</b>	<b>109,8 min</b>
<sup>30</sup> P	2,50 min
<sup>64</sup> Cu	13 h
<sup>68</sup> Ga	68,1 min
<sup>75</sup> Br	98,0 min
<sup>77</sup> Kr	75,2 min
<sup>124</sup> I	4,2 dias

As substâncias marcadas pelos radioisótopos incluem substratos do metabolismo celular, drogas, anticorpos, neurotransmissores e outras moléculas biologicamente ativas. As imagens produzidas representam o fluxo sanguíneo, o metabolismo da glicose, o transporte de aminoácidos, o metabolismo protéico, o estado dos neuroreceptores, o consumo de oxigênio.

O pósitron é uma partícula equivalente a um elétron, porém com carga positiva. Quando esta partícula é emitida do núcleo do radioisótopo e se depara com um elétron do meio, as 2 partículas se aniquilam, havendo a emissão de duas ondas de radiação gama em sentidos opostos (FIG.1). A radiação de aniquilação emitida simultaneamente nos 2 sentidos é detectada pelo equipamento PET, que tem vários cristais detectores dispostos ao redor da área estudada. Os eventos que ocorrem de forma coincidente em 2 cristais opostos permitem determinar o raio de origem do evento e, assim, formar as imagens que mostram a distribuição do radioisótopo no paciente <sup>[6]</sup>.



**FIGURA 1** – Esquema de aniquilação pósitron-elétron e detecção em coincidência dos fótons gama <sup>[8]</sup>.

A tomografia por emissão de pósitrons (PET) fornece imagens funcionais do metabolismo regional que podem ser mais sensíveis e acuradas que as imagens puramente morfológicas, na detecção de processos tumorais envolvendo os mais diversos órgãos, ou na detecção de patologias cardíacas e neurológicas.

Atualmente se dá cada vez mais importância à correlação anatômica dos estudos de PET, com o emprego de equipamentos que permitem a análise simultânea dos dados funcionais/metabólicos e dos dados anatômicos, obtidos pela tomografia computadorizada. A utilização de equipamentos PET/CT (FIG.2) permite a localização precisa das áreas hipermetabólicas e aumentam a acurácia do método.



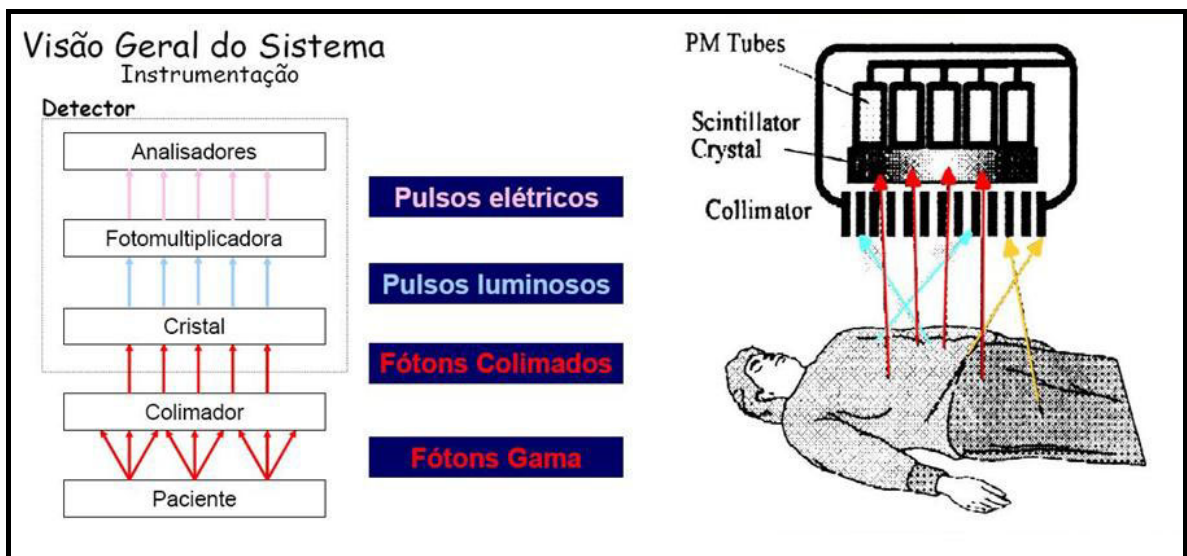
**FIGURA 2** – Equipamento de Tomografia por Emissão de Póstron – PET/CT (Gemini/Philips) <sup>[9]</sup>.

### **1.2.1.3. Tomografia Computadorizada por emissão de Fóton Único (SPECT)**

Os radionuclídeos emitem um único fóton com energia suficiente para não sofrer atenuação pelo corpo. Pode-se fazer uma imagem da distribuição do radiofármaco usando uma gama-câmara (FIG.3), que consiste de um cristal de cintilação de NaI (TI) de área grande (geralmente 50 cm x 50 cm) acoplado a um colimador com uma série de tubos fotomultiplicadores (PMTs) para amplificar os sinais <sup>[3]</sup> (FIG.4). A gama-câmara pode ser usada em uma posição estacionária para obter perspectiva planar do paciente (cintilografia planar), ou em rotação para realizar a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT).



**FIGURA 3** – Equipamento de Tomografia por Emissão de Fóton Único – SPECT (Dual Head-E.CAM/ Siemens) <sup>[10]</sup>.



**FIGURA 4** – Esquema de aquisição de imagem no SPECT <sup>[8]</sup>.

Assim, utilizando um radiofármaco, essa técnica permite a aquisição e a exibição de imagens tridimensionais e dinâmicas de órgãos ou tecidos. Esses radioisótopos devem emitir radiação gama com energia entre 100 a 300 keV, devem decair por captura eletrônica ou transição isomérica e não devem emitir radiação corpuscular para minimizar a dose de radiação para o paciente.. Os principais radioisótopos utilizados estão listados na

TAB.3, sendo o  $^{99m}\text{Tc}$  o mais utilizado, pois cerca de 80 % dos procedimentos para diagnóstico em medicina nuclear utilizam este radioisótopo <sup>[2]</sup>.

**TABELA 3.** Radioisótopos emissores de fóton único e suas respectivas meias-vidas.

<b>Radioisótopos</b>	<b>Meia-Vida</b>
$^{67}\text{Ga}$	78,3 h
$^{77}\text{Br}$	57,0 h
$^{81m}\text{Kr}$	13,0 s
<b><math>^{99m}\text{Tc}</math></b>	<b>6,00 h</b>
$^{111}\text{In}$	67,9 h
$^{123}\text{I}$	13,0 h
$^{131}\text{I}$	8,00 d
$^{201}\text{Tl}$	73,0 h

### 1.2.2. Radiofármacos para Diagnóstico

Os radiofármacos utilizados para o diagnóstico estão classificados em radiofármacos de perfusão e radiofármacos específicos. Os radiofármacos de perfusão são transportados no sangue e atingem o órgão alvo na proporção do fluxo sanguíneo. Não têm locais específicos de ligação e pensa-se que são distribuídos de acordo com tamanho e carga do composto. Os específicos são direcionados por moléculas biologicamente ativas, como, por exemplo, anticorpos e peptídeos, que se ligam a receptores celulares ou são transportados para o interior de determinadas células <sup>[4]</sup>. A administração desses radiofármacos é feita via oral, via intravenosa ou por inalação.

A TAB.4 mostra vários radiofármacos de perfusão para diagnóstico clínico e suas aplicações.

TABELA 4. Radiofármacos de perfusão para diagnóstico clínico [4].

RADIOFÁRMACO	APLICAÇÕES
	<b>1. Agentes da tiróide</b>
<sup>99m</sup> Tc-Pertecnetato de sódio	Carcinoma da tiróide e metástases e hipertiroidismo
<sup>131</sup> I-iodeto de sódio	
<sup>123</sup> I-iodeto de sódio	
	<b>2. Agentes cerebrais</b>
<sup>99m</sup> Tc-HMPAO (Ceretek®)	Avaliação da função cerebral
<sup>99m</sup> Tc-ECD (Neurolite®)	Sequelas de trombose
<sup>111</sup> In-DTPA	Estudo do líquido cefalorraquidiano
	<b>3. Agentes cardíacos</b>
<sup>99m</sup> Tc-Sestamibe (Cardiolite®)	Avaliação e localização da isquemia e necrose tecidual no enfarte do miocárdio
<sup>99m</sup> Tc-Tetrofosmina (Myoview®)	
<sup>99m</sup> Tc-Q12 (TechneCard®)	
<sup>99m</sup> Tc-PYP (TechneScan PYP®)	
<sup>201</sup> Tl-cloreto de tálio	Estudo de perfusão do miocárdio
	<b>4. Agentes tumorais</b>
<sup>67</sup> Ga-citrato de gálio	Tumores primários como doença de Hodgkin, linfomas, tumor dos pulmões e melanoma. Localização de doença inflamatória aguda e infecções
<sup>18</sup> F-FDG	Tumores da cabeça e pescoço, tumor dos pulmões, linfoma, estudo do metabolismo do cérebro e coração
	<b>5. Agentes hepatobiliares</b>
<sup>99m</sup> Tc-lidofenina (TechneScan®)	Avaliação da função hepática, dutos e vesícula biliar
<sup>99m</sup> Tc-mebrofenina (Choletec®)	
<sup>99m</sup> Tc-desofenina (Hepatolite®)	
<sup>99m</sup> Tc-enxofre coloidal (TechneColl®)	
	<b>6. Agentes renais</b>
<sup>99m</sup> Tc-glico-heptonato (Glucoscan®, TechneScan Glucoheptonate®)	Morfologia renal
<sup>99m</sup> Tc-DMSA	Morfologia e função renal
<sup>99m</sup> Tc-MAG3	
<sup>99m</sup> Tc-DTPA	
	<b>7. Agentes ósseos</b>
<sup>99m</sup> Tc-MDP (TechneScan MDP®, Osteolite®)	Detecção de zonas com osteogênese alterada e metástases de tumor pulmonar, mama e próstata
<sup>99m</sup> Tc-HDP (OsteoScan HDP®)	
	<b>8. Agentes pulmonares</b>
<sup>99m</sup> Tc-MAA (Pulmolite®, TechneScan MAA®, Macrotec®)	Avaliação da circulação pulmonar. Avaliação do sistema circulatório
	<b>9. Agentes hematológicos</b>
<sup>99m</sup> Tc-RBC	Avaliação do <i>pool</i> sanguíneo, estudo do funcionamento ventricular, detecção de hemorragias, estudo do baço
<sup>99m</sup> Tc-leucócitos	
<sup>99m</sup> Tc-plaquetas	



A TAB.5 mostra alguns radiofármacos específicos e suas aplicações.

**TABELA 5.** Radiofármacos específicos para diagnóstico clínico <sup>[4]</sup>.

<b>RADIOFÁRMACO</b>	<b>APLICAÇÕES</b>
<b>1. Receptores da somatostatina</b>	
<sup>111</sup> In-pentetreotideo (OctreoScan®)	Tumores neuroendócrinos e metástases, como gastrinoma, neuroblastoma, adenoma da pituitária, carcinoma medular da tiróide
<sup>99m</sup> Tc-P829 (NeoTec®)	Tumor do pulmão
<b>2. Receptores do SNC</b>	
<sup>99m</sup> Tc-TRODAT-1	Doença de Parkinson e esquizofrenia
<b>3. Receptores das LDL</b>	
<sup>131</sup> I-NP-59	Estudo das doenças das glândulas adrenais como adenoma adrenal e doença de Cushing
<b>4. Receptores adrenérgicos pré-sinápticos</b>	
<sup>131</sup> I ou <sup>123</sup> I –MIBG	Tumores neuroendócrinos, feocromocitoma e neuroblastoma
<b>5. Agentes tromboembólicos</b>	
<sup>99m</sup> Tc-P280 (AcuTec®)	Deteção de trombos arteriais e venosos
<b>6. Anticorpos monoclonais</b>	
<sup>99m</sup> Tc-arcitumomabe (CEA-Scan®)	Carcinoma do cólon e reto e metástases
<sup>99m</sup> Tc-nofetumomabe (Verluma®)	Tumor de pequenas células pulmonares
<sup>111</sup> In-satumomabe pendetida (OncoScint CR/OV®)	Tumor coloretal e dos ovários
<sup>111</sup> In-capromabe pendetida (ProstaScint®)	Tumor primário da próstata, metástases e hipertrofia da próstata
<sup>111</sup> In-imciromabe pendetida (MyoScint®)	Deteção de áreas necrosadas no enfarte do miocárdio

### 1.3. Terapia

A terapia com radionuclídeos está emergindo como uma importante ferramenta da medicina nuclear. Além do <sup>131</sup>I, bem estabelecido no uso terapêutico, outros radionuclídeos como o <sup>188</sup>Re, <sup>90</sup>Y e o <sup>177</sup>Lu tem sido identificados, e considerados os radionuclídeos mais promissores para terapia *in vivo* <sup>[11]</sup>.

Os radionuclídeos utilizados para terapia são emissores de partículas ionizantes (partículas β<sup>-</sup>, α ou elétrons Auger). O radionuclídeo a utilizar depende do tamanho do tumor, da distribuição intratumoral e farmacocinética do radiofármaco <sup>[4]</sup>.

A radiação particulada possui pequeno poder de penetração, mas é altamente energética, ioniza o meio que atravessa e promove uma série de efeitos biológicos que resultam na morte das células tumorais.

- **Radionuclídeos emissores de partículas  $\beta^-$**

São os radionuclídeos mais utilizados em terapia. As partículas  $\beta^-$  permitem uma dose de radiação uniforme apesar da sua deposição nos tecidos alvo (tumores) ser heterogênea.

- **Radionuclídeos emissores de partículas  $\alpha$**

Estes radionuclídeos são os escolhidos quando se pretende que a radiação tenha um pequeno alcance. Apesar de existirem mais de 100 radionuclídeos emissores  $\alpha$ , a maioria apresenta tempos de meia-vida extremamente longos, incompatíveis com as aplicações *in vivo*, sendo também de difícil produção. Como resultado, são apenas três os radionuclídeos emissores  $\alpha$  cuja a aplicação terapêutica está em estudo <sup>[4]</sup> (TAB.6).

- **Radionuclídeos emissores de *elétrons Auger***

Os *elétrons Auger* apresentam capacidade ionizante baixa, quando situados no citoplasma das células, mas elevada, quando incorporados em compostos que interagem diretamente com o DNA. Ainda não existem radiofármacos comercializados emissores de *elétrons Auger*, mas a concepção de radiofármacos baseados nos *elétrons Auger* constitui-se em área ativa de investigação. Será necessário conceber um radiofármaco específico internalizado pelas células e que atinja o núcleo das mesmas <sup>[4]</sup>.

Uma terapia específica é desenvolvida toda vez que se encontra uma forma química que pode ser marcada com um determinado radioisótopo, que irá atuar sobre um determinado tipo de tumor.

A TAB.6 e TAB.7 relacionam as características físicas dos radionuclídeos e as aplicações em terapia na medicina nuclear.

TABELA 6. Radionuclídeos para terapia [4].

Radionuclídeo	T <sub>1/2</sub> (dias)	Modo de decaimento	Energia máxima β <sup>-</sup> (MeV)	Energia raios γ (MeV)	Alcance máximo nos tecidos (mm)
<sup>131</sup> I	8,0	β <sup>-</sup>	0,81	0,364 (81%)	2,4
<sup>32</sup> P	14,3	β <sup>-</sup>	1,71	-	8,7
<sup>67</sup> Cu	2,6	β <sup>-</sup>	0,57	0,185 (48%) 0,092 (23%)	-
<sup>177</sup> Lu	6,7	β <sup>-</sup>	0,5	0,113 (6,4%) 0,208 (11%)	-
<sup>89</sup> Sr	50,5	β <sup>-</sup>	1,46	-	8,0
<sup>186</sup> Re	3,8	β <sup>-</sup>	1,07	0,137 (9%)	5,0
<sup>153</sup> Sm	1,9	β <sup>-</sup>	0,8	0,103 (29%)	3,0
<sup>90</sup> Y	2,7	β <sup>-</sup>	2,27	-	12,0
<b><sup>188</sup>Re</b>	<b>0,71</b>	<b>β<sup>-</sup></b>	<b>2,11</b>	<b>0,155 (15%)</b>	<b>10,8</b>
<sup>117m</sup> Sn	13,6	β <sup>-</sup>	0,13	0,158 (87%)	0,3
<sup>213</sup> Bi	0,76 h	α	8,0 (α)	0,440 (17%)	0,1
<sup>212</sup> Bi	1 h	α	6,0 (α)	0,727 (7%)	70,0 nm
<sup>211</sup> At	0,3	α	6,0 (α)	0,670 (0,3%)	65,0 nm
<sup>125</sup> I	60,3	CE	0,4 keV (e <sup>-</sup> Auger)	25-35 keV	10,0 nm

TABELA 7. Radiofármacos para terapia [4].

RADIOFÁRMACO	APLICAÇÕES
<b>1. Agentes da tiróide</b>	
<sup>131</sup> I-iodeto de sódio	Tratamento do hipertireoidismo e carcinoma papilar e folicular da tiróide
<b>2. Agentes tumorais de cavidades</b>	
<sup>32</sup> P-fosfato de cromo coloidal	Tratamento de metástases intraperitoneais, como tumor dos ovários, renal, gastrointestinal
<b>3. Agentes tumorais ósseos</b>	
<sup>89</sup> Sr-cloreto (Metastron®) <sup>153</sup> Sm-EDTMP (Quadramet®) <sup>186</sup> Re-HEDP <sup>a)</sup> <sup>117m</sup> Sn-DTPA <sup>a)</sup>	Tratamento paliativo da dor nas metástases ósseas
<b>4. Agentes neurotumoriais</b>	
<sup>131</sup> I-MIBG <sup>90</sup> Y-DOTA-Tyr3-octreotideo <sup>a)</sup> <sup>90</sup> Y-DOTA-lanreotideo <sup>a)</sup>	Tratamento de tumores neuroendócrinos como o neuroblastoma ou feocromocitoma
<b>5. Radioimunoterapia</b>	
<sup>131</sup> I-anticorpo anti-B1 (BEXAR®) <sup>a)</sup> <sup>90</sup> Y-MX-DTPA-anticorpo anti-B1	Tratamento do linfoma não-Hodgkin

NOTA: a) ainda em ensaios clínicos.

## 1.4. Tecnécio

O tecnécio (Tc), elemento 43, tem o seu nome procedente do grego *tecnētos*, que significa "artificial". Foi descoberto por Carlo Perrier e Emilio Segré na Itália em 1937, numa amostra de molibdênio, enviada por Ernest Lawrence, que foi bombardeada com núcleos de deutério em um ciclotron em Berkeley. O tecnécio foi o primeiro elemento a ser produzido artificialmente [12].

O tecnécio é um metal da segunda série de transição da Tabela Periódica, pertencente à família 7B, e está localizado entre o molibdênio e o rutênio e entre o manganês e o rênio. Até o momento, todos os isótopos conhecidos do tecnécio são radioativos, desde o  $^{90}\text{Tc}$  ao  $^{110}\text{Tc}$ , e incluem oito pares de isômeros nucleares, entre eles  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - $^{99}\text{Tc}$ . Isômeros nucleares são nuclídeos que se diferenciam apenas pelo seu conteúdo energético. O nuclídeo no estado mais energético (metaestável), libera energia eletromagnética (radiação gama) na transição para um estado isomérico de energia mais baixa.

A grande maioria dos radiofármacos utilizados atualmente na Medicina Nuclear com fins de diagnóstico é preparada a partir do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , que apresenta características físicas ideais: é mono-emissor gama de baixa energia (140 keV), possui tempo de meia-vida física relativamente curto (6,02 h, ou seja, a cada intervalo de 6,02 h a atividade de uma amostra de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  decai pela metade), e não emite radiação particulada ( $\alpha$  ou  $\beta^-$ ). Essas características físicas, em conjunto, possibilitam a aquisição de imagens cintilográficas com excelente resolução [3,13].

O  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  é produto do decaimento radioativo do  $^{99}\text{Mo}$ . Cerca de 86 % dos átomos de  $^{99}\text{Mo}$  de uma amostra desintegram-se por emissão de radiação  $\beta^-$  e originam núcleos de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  que, por sua vez, desintegram-se por emissão de radiação gama para originar o  $^{99}\text{Tc}$ , o qual se desintegra a  $^{99}\text{Ru}$  (estável) (FIG.5) [3]. Dessa forma,  $^{99}\text{Mo}$  é chamado de elemento "pai" e  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  de elemento "filho". O  $^{99}\text{Mo}$  e o  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  formam um par radioativo em equilíbrio transiente, já que o tempo de meia-vida física do pai é apenas maior que o do filho. Esse equilíbrio possibilita a fabricação do sistema gerador de radionuclídeo de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . Por meio do sistema gerador de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (FIG.6), o elemento  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  pode ser facilmente disponibilizado no hospital ou serviço de Medicina Nuclear. O gerador é um sistema fechado, composto por uma coluna cromatográfica de óxido de alumínio ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), na qual é depositada uma atividade conhecida de  $^{99}\text{Mo}$ . Dentro deste sistema, o  $^{99}\text{Mo}$  decai dando origem ao  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  que pode ser eluído com uma solução de NaCl 0,9% e coletado na

forma de pertecnetato de sódio ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ), enquanto o  $^{99}\text{Mo}$  permanece adsorvido à coluna de alumina <sup>[3]</sup> (FIG.7). Após o período de crescimento ideal de aproximadamente 24 h, o gerador pode ser novamente eluído com rendimento teórico máximo de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . A vida útil de um gerador pode variar de uma semana a 15 dias, dependendo da atividade inicial de  $^{99}\text{Mo}$ . A cada dia, uma atividade menor de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  é eluída, devido ao próprio decaimento do elemento pai.

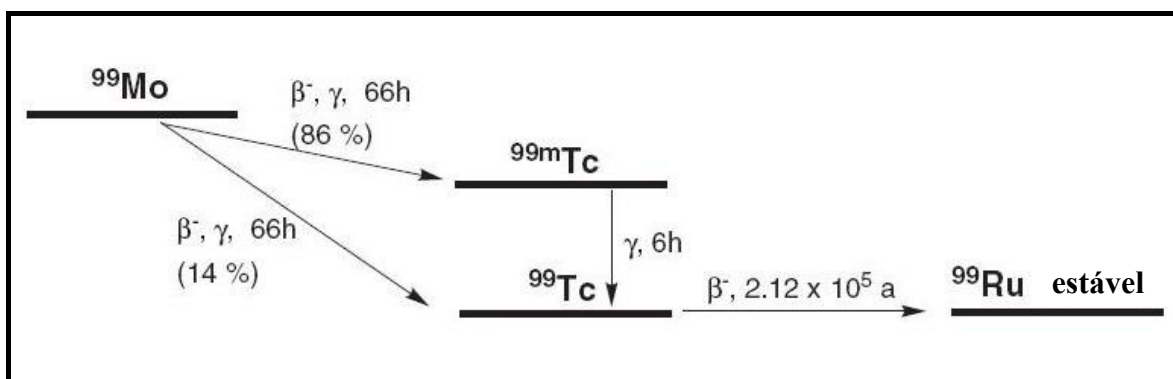
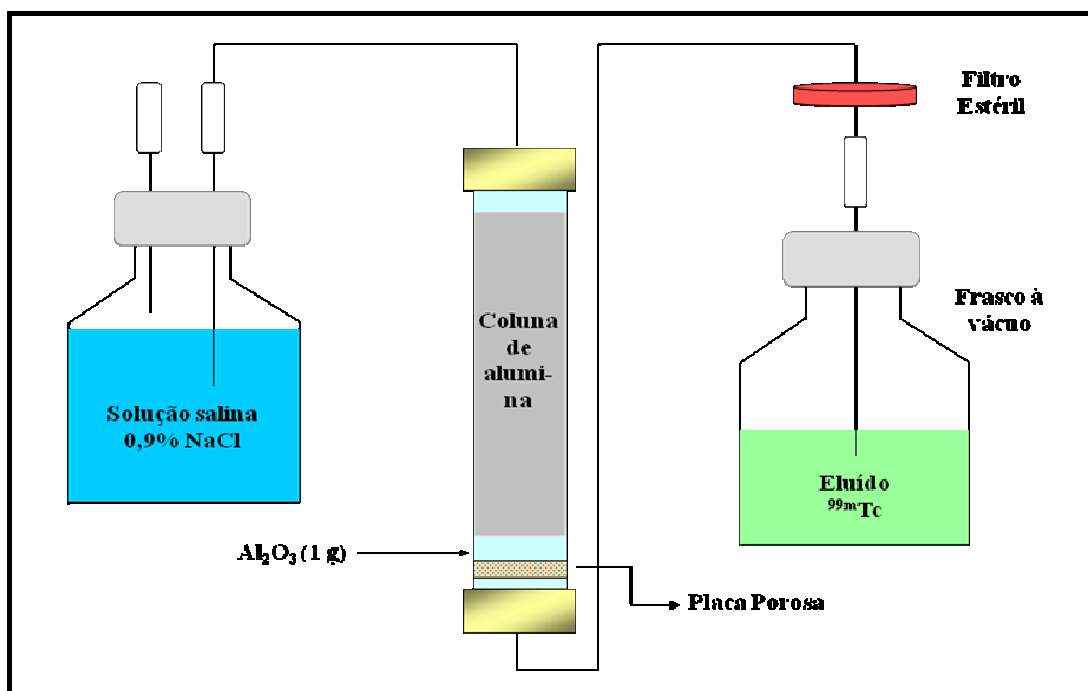


FIGURA 5 - Esquema de decaimento do  $^{99}\text{Mo}$ .

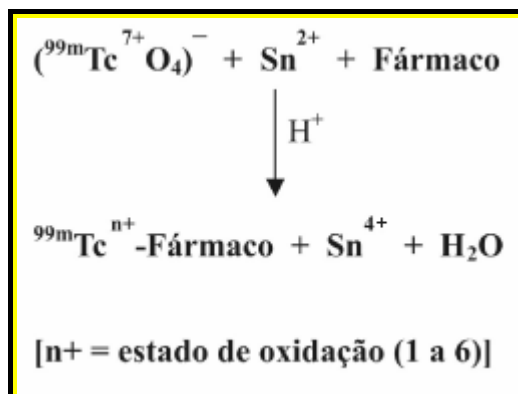


FIGURA 6 – Gerador de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (IPEN-TEC).



**FIGURA 7** – Ilustração do processo de eluição que ocorre no interior dos geradores de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99m}\text{Tc}$  produzidos pelo IPEN.

Na forma de pertecnetato, tal como é obtido do gerador, o  $^{99m}\text{Tc}$  é quimicamente estável. Contudo, como o  $^{99m}\text{Tc}$  pode existir em 9 estados de oxidação (-1 a +7), é possível a formação de complexos de coordenação com numerosos agentes quelantes. A coordenação de agentes quelantes ao  $^{99m}\text{Tc}$  é feita quando o metal se encontra em estados de oxidação inferiores ao +7. A redução do estado de oxidação +7 para outros estados de oxidação é realizada normalmente com cloreto estânico (FIG.8) <sup>[3,12,14]</sup>.



**FIGURA 8** – Esquema geral da reação de oxi-redução e complexação para obtenção dos radiofármacos marcados com  ${}^{99m}\text{Tc}$  [14].

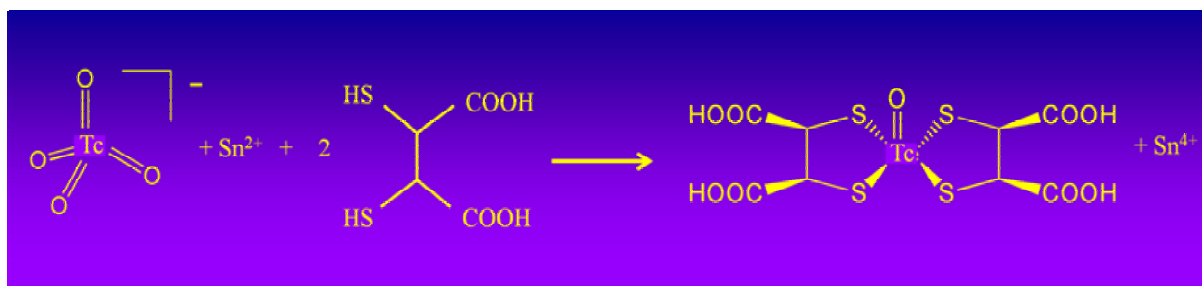
#### 1.4.1. ${}^{99m}\text{Tc}$ -DMSA

A grande versatilidade do uso do  ${}^{99m}\text{Tc}$  se deve a sua disponibilização em marcar com eficiência pelo método direto uma série de formulações liofilizadas, chamadas comercialmente de reagentes para radiodiagnóstico ou kits. Cada kit tem uma aplicação diferenciada dentro do corpo humano.

Um dos kits usados para marcação com  ${}^{99m}\text{Tc}$  é o DMSA, que se apresenta de duas formas:  ${}^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (III) e o  ${}^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V).

O kit de  ${}^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (III) é preparado em meio ácido, já o  ${}^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) é preparado em meio básico e essa característica promove um comportamento biológico diferente [2].

A FIG.9 mostra a reação que representa todo processo de marcação do  ${}^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V), mostrando o processo de redução do Tc e complexação com o DMSA.



**FIGURA 9** – Reação do processo de redução do Tc e complexação com o DMSA.

O  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (III) é usado para cintilografia de córtex renal [2,15], enquanto o  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) detecta carcinoma medular de tireóide, tumores de tecidos moles (tecido conjuntivo, linfáticos, vasos, músculos liso e estriado, gordura, fáscia muscular, tecido sinovial, endotélio e reticuloendotélio), tumores de cabeça e pescoço, cérebro, metástases de fígado e ossos provenientes de carcinoma de mama [2,15,16,17,18,19,20,21]. O exame cintilográfico com  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) também foi proposto como uma ferramenta útil e não invasiva para detecção e localização de inflamação intestinal [22].

O mecanismo de captação deste radiofármaco ainda não foi realmente esclarecido, mas estudos apontam que a captação do radiofármaco pelo tumor pode estar relacionada com o nível de calcitonina no organismo [23,24]. A calcitonina é um hormônio secretado pelas células parafoliculares tiroideanas e atua no metabolismo do íon cálcio. Quando o nível plasmático de cálcio se torna acima do normal, as células parafoliculares da tireóide aumentam a secreção de calcitonina. Esta faz com que a hipercalcemia se reduza. O carcinoma medular de tireóide (CMT) tem como principal produto secretório a calcitonina [25,26].

## 1.5. Rênio

O rênio foi descoberto na Alemanha em 1925, por Walter Noddack, Ida Tacke e Otto Berg, que observaram a presença do elemento em minerais de platina, na columbita (tântalo-niobato de ferro e manganês), na gadolinita (silicato de berílio, ferro e ítrio) e na molibdenita (sulfeto de molibdênio). Em 1928, conseguiram extrair 1 g de rênio a partir do processamento de aproximadamente 660 kg de molibdenita. O rênio (do latim *Rhenus* - o rio Reno), foi o último elemento natural a ser descoberto [27].

O símbolo do elemento químico é Re, com número atômico 75 e massa atômica relativa no valor de 186,2 u. Está classificado no grupo 7 e período 6 da tabela periódica dos elementos, juntamente com os outros metais de transição manganês, tecnécio e bório.

O rênio natural é uma mistura de dois isótopos estáveis, o  $^{185}\text{Re}$  com abundância de 37,4% e o  $^{187}\text{Re}$  com abundância de 62,6%. Raramente encontrado na natureza, é obtido como subproduto do processamento de minerais de molibdênio [27].

O  $^{186}\text{Re}$  e  $^{188}\text{Re}$  são radionuclídeos emissores de partícula  $\beta^-$  com excelentes propriedades físicas para o uso terapêutico na medicina nuclear. Além disso, emitem raios gama ( $\gamma$ ) que podem ser usados para monitorar a eficácia da terapia através de imagens cintilográficas e realizar um estudo dosimétrico [28].



O  $^{186}\text{Re}$  possui meia-vida física de 90 horas, decai por emissão  $\beta^-$  com energia de 1,1 MeV e possui raios gamas com energia de 137 keV [28].

O  $^{188}\text{Re}$  decai por emissão  $\beta^-$  com alta energia média ( $E_{\text{média}} = 764$  keV). Possui uma meia-vida de 17 horas e decai 79% das vezes para o estado fundamental do  $^{188}\text{Os}$ , um elemento estável, por  $\beta^-$ ,  $E_{\text{máx}(1)} = 2,11$  MeV e 20% para o primeiro estado excitado por  $\beta^-$ ,  $E_{\text{máx}(2)} = 1,97$  MeV. A desexcitação do  $^{188}\text{Os}$  fornece fótons de 155 keV com intensidade de 15%. Cerca de 5% da energia é convertida na camada eletrônica do ósmio em uma faixa secundária de elétrons e raios-X. A constante de equilíbrio da taxa de dose média para o  $^{188}\text{Re}$  é de  $8,01 \times 10^{-12}$  (kg.Gy)/(Bq.s) [27].

O  $^{188}\text{Re}$  apresenta algumas vantagens em relação ao  $^{186}\text{Re}$ , pois é livre de carregador e é convenientemente obtido por um sistema de gerador  $^{188}\text{W}-^{188}\text{Re}$  [29]. O  $^{188}\text{Re}$  é eluído do gerador na forma de perrenato de sódio ( $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ ), e assim como o pertecnetato de sódio ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ) precisa ser reduzido para estados de oxidação menores para ser complexado a outras moléculas.

O Re pertence ao mesmo grupo do Tc na tabela periódica, por isso apresentam propriedades químicas similares, entretanto, uma diferença básica entre os dois elementos está relacionada às suas posições dentro do grupo 7. O Tc, por pertencer à segunda série de transição, tem potencial de redução diferente do potencial do Re, que ocupa a terceira série de transição [29]. O potencial de redução do Re é mais baixo que do Tc, isso faz dos complexos de Re mais estáveis termodinamicamente quando estão com um maior estado de oxidação se comparados aos análogos de Tc. A estabilidade termodinâmica dificulta a redução do centro do metal e limita a obtenção de radiofármacos com  $^{188}\text{Re}$  quando são utilizados os procedimentos de radiomarcção padrão para o  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  [27].

Uma série de compostos está sendo investigada para a marcação com  $^{188}\text{Re}$ , cujo objetivo principal é identificar os compostos que apresentam características farmacocinéticas adequadas para o uso terapêutico.

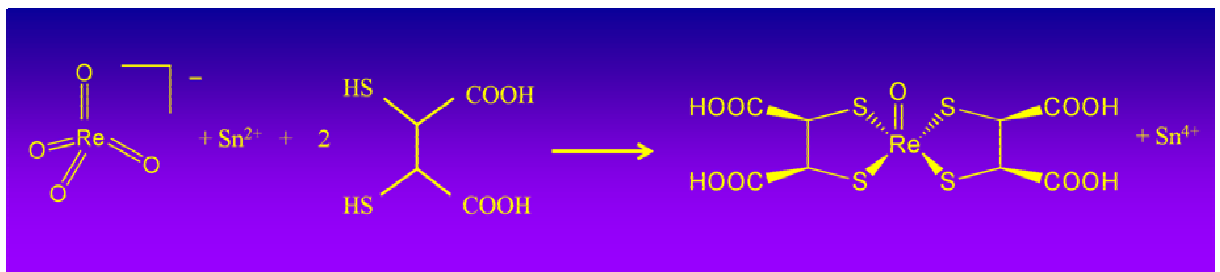
### 1.5.1. $^{188}\text{Re}$ -DMSA (V)

As propriedades farmacocinéticas do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA (V) são similares ao do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (V) [27,30]. O  $^{188}\text{Re}$ -DMSA (V) tem sido proposto para tratamento de carcinoma medular de tireóide, tumores de tecidos moles, e tratamento da dor causada por metástases ósseas [31].

No tratamento do carcinoma medular de tireóide, o  $^{188}\text{Re}$ -DMSA (V) pode ser uma excelente alternativa, uma vez que esse tipo específico de tumor na tireóide não concentra o  $^{131}\text{I}$ , portanto a terapia com este radionuclídeo é inválida [3].

O carcinoma medular de tireóide é um tumor maligno raro com origem nas células parafoliculares da tireóide. Representa 3 a 10% de todos os tumores tireoidianos e é responsável por um grande número de mortes em portadores de câncer de tireóide [26].

A preparação do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA (V) é diferente da preparação do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (V), por ser feita em meio ácido e não básico. A FIG.9 mostra a reação que representa todo processo de marcação do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA (V), mostrando o processo de redução do Re e complexação com o DMSA.



**FIGURA 10** – Reação do processo de redução do Re e complexação com o DMSA.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Preparação do $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V)

A preparação do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) pode ser feita por dois métodos diferentes, denominados neste trabalho por formulação indireta e formulação direta. A formulação indireta utiliza um kit comercial de  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (III) mais um determinado volume de  $\text{NaHCO}_3$  para elevar o pH do kit de 2,5 para ~8,5. A formulação direta é uma formulação liofilizada já pronta para marcação com  $^{99m}\text{Tc}$ , sendo o método de interesse do trabalho.

Em 2008, o IPEN-CNEN/SP passou a comercializar o  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) com a formulação indireta, onde o kit de DMSA(III) acompanha um frasco com solução de  $\text{NaHCO}_3$  4,2 % [32].

Foi realizada uma revisão bibliográfica dos dois métodos de preparação do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V), descrita a seguir.

#### 2.1.1. Formulação indireta

Westera et al. (1985) [16] prepararam o  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) utilizando um kit comercial de  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (III) (Nephrosint, IRE) contendo 1,0 mg de DMSA, 0,35 mg de  $\text{SnCl}_2$ , 0,7 mg ácido ascórbico, 2,9 mg  $\text{NaCl}$  e 50 mg inositol. O pH do kit foi ajustado com 0,1 mL de  $\text{NaHCO}_3$  7% (bicarbonato de sódio). Adicionando-se 3 mL de  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  (pertechnetato), seguido de agitação e tempo de incubação de 30 minutos à temperatura ambiente. A pureza radioquímica foi avaliada por três técnicas: cromatografia em camada fina, eletroforese e cromatografia com coluna sepharose 6B. O rendimento de marcação obtido foi > 95%.

Adams et al. (1990) [17] prepararam o  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) utilizando um kit comercial de  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (III) do laboratório Amersham. O kit apresentava 1,0 mg de DMSA, 0,42 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,70 mg de ácido ascórbico, 2,90 mg de  $\text{NaCl}$  (cloreto de sódio) e 50,0 mg de inositol. Ao kit foi adicionada uma solução estéril e apirógena de 0,1 mL de

NaHCO<sub>3</sub> 7%. Imediatamente após agitar a solução, 3,0 mL de <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>, com uma atividade de 407 MBq (11 mCi), também foram adicionados à solução. Novamente a solução foi agitada, permanecendo em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente para reação. A pureza radioquímica foi avaliada através da técnica de cromatografia em camada fina, utilizando como suporte uma fita de TLC com sílica-gel 60 (Merck), e como solvente uma mistura de n-butanol/ ácido acético/ H<sub>2</sub>O (3:2:3). O R<sub>f</sub> para o <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) foi 0,66 e a eficiência da marcação foi > 90%.

Horiuchi et al. (1991) [23] prepararam o <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) utilizando um kit comercial de <sup>99m</sup>Tc-DMSA (III) do laboratório Daiichi Radioisotope Laboratory. O kit apresentava 1,36 mg de DMSA, 1,26 mg de NaHCO<sub>3</sub>, 0,11 mg de SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O e 30 mg de glicose. Ao kit foi adicionada uma mistura de 2,4 mL de <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> com atividade de 370 MBq (10 mCi) e 0,1 mL de NaHCO<sub>3</sub> 7%. O composto apresentou um pH final de 8,0. A pureza radioquímica foi avaliada através da técnica de cromatografia em camada fina, utilizando como suporte uma fita de TLC com sílica-gel (Merck), e como solvente uma mistura de n-butanol/ ácido acético/ H<sub>2</sub>O (3:2:3). O R<sub>f</sub> para o <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) foi de 0,43-0,55 e para o TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> foi de 0,65-0,70.

Chauhan et al. (1992) [18] obtiveram o <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V), preparando inicialmente um kit de <sup>99m</sup>Tc-DMSA (III) com a seguinte formulação: em 1 mL de água foi adicionado 1,1 mg de DMSA e 1,26 mg de NaHCO<sub>3</sub>. Após a solução ser agitada, 0,75 mg de ácido ascórbico e 0,2 mg de SnCl<sub>2</sub> foram adicionados à solução. O pH foi ajustado para 2,5 com HCl 1N. O composto foi posteriormente liofilizado. Para preparar o <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V), foi adicionado ao kit de <sup>99m</sup>Tc-DMSA (III) 0,2 mL de NaHCO<sub>3</sub> 3,5% e 2-3 mL de <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>, com uma atividade de 185-740 MBq (5-20 mCi). A pureza radioquímica foi avaliada por quatro técnicas: cromatografia em papel Whatman 3 (solvente – acetona 100%), cromatografia em camada fina com fita de ITLC-SG (solvente – NaCl 0,9%), coluna de Biogel P-100 (NaCl 9%) e eletroforese em papel com tampão vermol em pH 8,6. Na cromatografia em papel Whatman 3, o TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> é separado do DMSA-<sup>99m</sup>Tc (V). Na cromatografia em camada fina com fita de ITLC-SG o TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> e o <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) migram com o solvente, enquanto que o TcO<sub>2</sub> permanece na origem. O rendimento de marcação alcançado foi > 95%.

Hirano et al. (1994) [15] prepararam o <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) utilizando um kit comercial de <sup>99m</sup>Tc-DMSA (III) do laboratório Daiichi Radioisotope Laboratory. O kit apresentava 1,4 mg de DMSA e 0,5 mg de SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O. As variáveis estudadas foram: o volume de

$\text{NaHCO}_3$  7% (0 - 500  $\mu\text{L}$ ) e a massa do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,5 – 1,0 mg), apresentando uma variação no pH de 1,7 – 8,6. Em cada solução foram adicionados 2 mL de  $\text{TcO}_4^-$  com uma atividade de aproximadamente 740 MBq (20 mCi). As soluções foram deixadas em repouso por 5 minutos à temperatura ambiente para reação. A pureza radioquímica foi avaliada através da técnica de cromatografia em camada fina, utilizando como suporte uma fita de TLC com sílica-gel (Merck), e como solvente uma mistura de n-butanol/ ácido acético/  $\text{H}_2\text{O}$  (3:2:3). O Rf para o  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (III) foi de 0-0,1, de 0,45-0,55 para o  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (V) e 0,8-0,9 para o  $\text{TcO}_4^-$ . O  $\text{TcO}_2$  foi separado das outras espécies utilizando como suporte uma fita de TLC com sílica-gel (Merck), e como solvente água. Nestas condições o  $\text{TcO}_2$  permaneceu na origem, enquanto as outras espécies migraram com o solvente. A solução que apresentou maior eficiência de marcação ( $83,0\% \pm 2,8$ ) para o  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (V), foi a que utilizou 200  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaHCO}_3$ , com o pH de  $7,6 \pm 0,3$ . A solução que utilizou 1,0 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  aumentou a eficiência de marcação do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (III), de  $73,7\% \pm 4,1$  para  $90,8\% \pm 1,7$ .

Washburn et al. (1995) <sup>[33]</sup> prepararam  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (V) utilizando um kit comercial de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (III) do laboratório Amersham. O kit apresentava 1,0 mg de DMSA, 0,42 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,70 mg de ácido ascórbico e 50,0 mg de inositol. Ao kit foi adicionado 1,0 mL de  $\text{NaHCO}_3$  4,2 %, elevando o pH para 8,3. Em seguida foi marcado com 3 mL de  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$  (740-1480 MBq/ 20-40 mCi) e deixado encubado por 10 minutos em temperatura ambiente. Então, a solução foi nitrogenada por 10 minutos e depois filtrada em Millipore 0,2  $\mu\text{m}$ . A pureza radioquímica foi avaliada por cromatografia em camada fina, utilizando fita TLC-SG (2 x 7 cm) e como solvente n-butanol/ácido acético/água (3:2:3 por volume). O valor de Rf para  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (III) é 0, do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (V) é 0,4-0,6 e para o  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$  é 0,65-0,8. O rendimento de marcação alcançado foi > 95%.

Bernardes et al. (2008) <sup>[34]</sup> (IPEN-CNEN/SP) prepararam o  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (V) usando um kit comercial de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (III) e 1,0 mL de  $\text{NaHCO}_3$  4,2 % (IPEN-CNEN/SP). O kit de DMSA(III) continha 1,0 mg de DMSA, 0,44 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,7 mg ácido ascórbico e 50 mg de inositol (pH 2,5). Para realizar a marcação, o kit de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (III) foi dissolvido com 1,0 mL de  $\text{NaHCO}_3$  4,2 % e marcado com 2-3 mL de  $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ , com atividade de 37 a 3700 MBq, apresentando pH final igual a 9. A pureza radioquímica foi avaliada nos tempos de 30, 60, 120 e 240 minutos, e a estabilidade do produto foi estudada por 9 meses. A pureza radioquímica foi avaliada por 3 sistemas

cromatográficos: papel Whatman 3MM (1,5 x 12,5 cm), usando acetona e NaCl 0,9 % como solventes e fita TLC-SG Al (1,5 x 9,5 cm), utilizando a mistura de n-butanol/ácido acético/água (3:2:3) como solvente. O rendimento de marcação obtido foi > 90%. A biodistribuição em ratos Wistar foi avaliada 1 hora após a injeção do radiofármaco (7,4-11,1 MBq/0,1mL). Os valores de porcentagem de dose injetada (% D.I) foram: rins  $\leq$  20%, fígado  $\leq$  3%, baço  $\leq$  1%, fêmur  $\leq$  1,5% e esqueleto  $\leq$  70%.

### 2.1.2. Formulação direta

Mushtaq et al. (2000) <sup>[19]</sup> prepararam o <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) por dois métodos. Primeiro descreveram a formulação de um kit liofilizado para o <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) e depois compararam os resultados da eficiência da marcação, estabilidade e comportamento radioquímico encontrados com essa formulação, com uma outra fórmula que utiliza um kit comercial de <sup>99m</sup>Tc-DMSA (III). Esse kit apresentava 1,0 mg de DMSA, 0,6 mg de SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0,7 mg ácido ascórbico e 50 mg de inositol. Para se obter o <sup>99m</sup>Tc-DMSA(V) foi adicionado ao kit 0,6 mL de NaHCO<sub>3</sub> 7%, elevando o pH para aproximadamente 8,5. Em seguida foram adicionadas à solução 2-3 mL de TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>. A solução foi deixada em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente para reação. Essa formulação apresentou uma eficiência de marcação > 95%. O kit liofilizado de <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) foi preparado com diferentes razões molares entre o DMSA e o SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (1:1; 1,5:1; 2:1 e 3:1), e para ajustar o pH para 8,6 ± 1 foram utilizados NaOH e HCl. Em cada kit liofilizado de <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) foram adicionados 2-3 mL de TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>. As soluções foram deixadas em repouso por 30 minutos. A formulação que apresentou melhor eficiência de marcação (> 95%) foi a que utilizou a razão molar de 2:1 (DMSA:SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O). Essa formulação apresentava 1,8 mg de DMSA e 1,12 mg de SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O. A pureza radioquímica foi avaliada através de métodos cromatográficos. Na técnica de cromatografia em papel Whatman 1, utilizando acetona como solvente, o <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) e o <sup>99m</sup>Tc-DMSA (III) permaneceram na origem (Rf = 0), e o TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> migrou com o solvente (Rf = 0,9 - 1). E na técnica de cromatografia em camada fina, utilizando como suporte uma fita de TLC - sílica-gel 60F 254 (Merck), e como solvente uma mistura de n-butanol/ ácido acético/ H<sub>2</sub>O (3:2:3), o Rf do <sup>99m</sup>Tc-DMSA (III) é 0, do <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) é 0,5 e do TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> é 0,7. Realizaram o estudo da biodistribuição do <sup>99m</sup>Tc-DMSA(V), utilizando a formulação do kit liofilizado e do <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) preparado a partir do DMSA(III) em ratos *Sprague-Dawley*. O estudo

foi realizado após uma hora da administração do radiofármaco e foram encontrados valores de porcentagem de dose injetada por órgão (% d.i./órgão) semelhantes para os dois kits.

Ayranov et al. (2001) <sup>[20]</sup> prepararam uma formulação liofilizada do kit de DMSA(V) que continha 1,0 mg DMSA, 0,42 mg SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 7,0 mg de NaHCO<sub>3</sub>, 7,0 mg de NaCl e 0,80 mg ácido ascórbico. O DMSA e o NaHCO<sub>3</sub> foram dissolvidos em água sob nitrogênio, depois foram adicionados nesta solução o ácido ascórbico, o NaCl, e em seguida o SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O dissolvido em HCl 0,1 N. O pH foi ajustado com NaHCO<sub>3</sub> 10% entre 7,5 e 9,5. A solução foi filtrada em Millipore 0,2 µm e liofilizada. O kit foi marcado pela adição de 2 a 4 mL de <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>. O tempo de reação foi de 20 minutos em temperatura ambiente. A pureza radioquímica foi determinada por cromatografia em camada fina, utilizando 3 sistemas de solventes: Metiletilcetona para separar o TcO<sub>2</sub>, <sup>99m</sup>Tc-DMSA(III) e o <sup>99m</sup>Tc-DMSA(V) (R<sub>f</sub> 0-0,1) do <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> (R<sub>f</sub> 0,9-1,0). A mistura de n-butanol/ácido acético/água (3:2:3) para separar <sup>99m</sup>Tc-DMSA(III) (R<sub>f</sub> 0-0,1), <sup>99m</sup>Tc-DMSA(V) (R<sub>f</sub> 0,5-0,7) e o <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> (R<sub>f</sub> 0,8-0,9) e NaCl 0,154 N para separar o TcO<sub>2</sub> (R<sub>f</sub> 0) das outras espécies que migram com o solvente. Conseguiram com essa formulação rendimentos de marcação superiores a 90%.

A Comissão Chilena de Energia Nuclear (CCHEN) <sup>[35]</sup> produz o <sup>99m</sup>Tc-DMSA (V) utilizando um kit com a composição de 3mg de DMSA, 0,25mg de SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 3mg de ácido L (+) ascórbico e solução tampão pH 9. O kit apresenta pH final entre 8-9.

## 2.2. Preparação do <sup>188m</sup>Re-DMSA(V)

Singh et al. (1993) <sup>[36]</sup> prepararam o <sup>188</sup>Re-DMSA(V) com um kit comercial de <sup>99m</sup>Tc-DMSA(III), adicionando 1 mL de <sup>188</sup>ReO<sub>4</sub> seguido de 30 minutos em banho maria. O resultado do rendimento de marcação foi de 99%. Com o objetivo de estudar o efeito do volume do <sup>188</sup>ReO<sub>4</sub> no rendimento da marcação, realizaram o mesmo procedimento marcando outro kit, mas com 2 mL de <sup>188</sup>ReO<sub>4</sub><sup>-</sup> e conseguiram apenas 15% de rendimento de marcação. Isto acaba sendo uma limitação desse método, pois requer uma alta concentração radioativa de <sup>188</sup>ReO<sub>4</sub><sup>-</sup>. O rendimento da marcação diminuiu, pois o pH do kit marcado com 2 mL de <sup>188</sup>ReO<sub>4</sub> é maior que do kit marcado apenas com 1 mL. Um volume maior do eluato de <sup>188</sup>Re pode ser usado, se o mesmo for previamente acidificado com ácido hidrocloreídrico ou ácido nítrico para um pH ~1,2. A pureza radioquímica foi avaliada por TLC (Merck Si 60F<sub>254</sub>, 5 x 10 cm), usando como solvente a mistura n-butanol/ácido

acético/água (3:2:3). O  $^{188}\text{ReO}_4$  apresentou  $R_f = 0,8$ , todos os isômeros do  $^{188}\text{Re-DMSA(V)}$  apresentaram  $R_f = 0,6$  e as impurezas hidrofílicas,  $R_f = 0$ .

Bolzati et al. (2000) <sup>[29]</sup> descreveram uma formulação para preparar do  $^{188}\text{Re-DMSA (V)}$  a partir de 0,2 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 2,5 mg de DMSA, 10 mg de  $\gamma$ -ciclodextrina e 13 mg de oxalato de potássio. O pH da solução foi mantido por volta de 5 e a marcação prosseguiu com 0,25 mL de  $^{188}\text{ReO}_4$  com variação da atividade de 50 a 500 MBq (1,35 a 13,50 mCi) durante 15 minutos sem aquecimento. A pureza radioquímica foi avaliada por HPLC (*high performance liquid chromatography*). O rendimento de marcação conseguido com essa formulação foi 95%..

Pirmettis et al. (2001) <sup>[31]</sup> prepararam um kit liofilizado de DMSA(V) para marcação com  $^{188}\text{Re}$ . O kit apresentava a seguinte composição: 5 mg de DMSA, 1 mg  $\text{SnCl}_2$ , 15 mg ácido ascórbico, 25 mg de inositol. O kit foi marcado com volumes entre 1-6 mL de  $^{188}\text{ReO}_4$  (370 MBq). O tempo de reação da marcação foi de 30 minutos em banho maria. As marcações feitas com até 4,0 mL apresentaram rendimentos de marcação > 95%. O pH da solução final era 3,5-4,0. A pureza radioquímica foi avaliada por ITLC-SG utilizando dois sistemas de solventes. Acetona separou o  $^{188}\text{ReO}_4$  ( $R_f$  1) do  $^{188}\text{Re-DMSA (V)}$  e  $^{188}\text{ReO}_2$ , que permaneceram na origem ( $R_f$  0), e glicina 5% para separou  $^{188}\text{ReO}_2$  ( $R_f$  0) do  $^{188}\text{Re-DMSA (V)}$  e  $^{188}\text{ReO}_4$ , que migraram para frente do solvente ( $R_f$  1).

Salinas et. al. (2001) <sup>[30]</sup> descreveram a seguinte formulação para preparação do  $^{188}\text{Re-DMSA(V)}$ : 14 mg de DMSA e 5 mg ácido ascórbico foram dissolvidos em 5 mL de água destilada, o pH dessa solução foi ajustado para 8,0 com NaOH 6 N. Adicionou-se a esta solução 5 mL de solução de cloreto estânico (12,78 mg de  $\text{SnCl}_2$  em 10 mL de HCl 0,06 N). O pH final foi 2,0. Retirou-se 1 mL dessa solução e marcou-se com 1 mL de  $^{188}\text{ReO}_4$ . O tempo de reação foi de 30 minutos a 92 °C. A pureza radioquímica foi avaliada por cromatografia em camada fina, utilizando fita TLC-SG com dois sistemas de solventes. Acetona, para separar  $^{188}\text{ReO}_2$  ( $R_f$  0) do  $^{188}\text{Re-DMSA(V)}$  e  $^{188}\text{ReO}_4$  ( $R_f$  1), diferente do informado por Pirmettis et al. O outro sistema de solvente utilizado foi solução salina 0,9 % para separar  $^{188}\text{ReO}_4$  ( $R_f$  1) do  $^{188}\text{ReO}_2$  e  $^{188}\text{Re-DMSA(V)}$  ( $R_f$  0). Foi obtido com essa formulação rendimento de marcação > 95% com até 48 horas de estabilidade de marcação.



### 3. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são:

- Desenvolver um método de preparação do kit liofilizado de DMSA(V) para marcação com  $^{99m}\text{Tc}$ . O objetivo de preparar um kit liofilizado do DMSA (V) para marcação com  $^{99m}\text{Tc}$  é facilitar o preparo do radiofármaco na clínica, e propor uma alternativa a mais para produção rotineira do Centro de Radiofarmácia do IPEN.
  
- Desenvolver um método de preparação do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Materiais

#### 4.1.1. Infraestrutura e Equipamentos

Todos os procedimentos foram realizados nos laboratórios do Centro de Radiofarmácia (CR) no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP). Foram utilizados:

- Detector de Germânio hiper puro, modelo GX1518: *Canberra*; acoplado ao programa Geniepc para tratamento dos dados.
- Balança analítica, modelo M-220: *Denver Instrument*;
- Liofilizador, modelo *Supermodulyo*: *Edwards*;
- Liofilizador: *Thermo Savant*;
- Calibrador de doses, modelo CRM<sup>TM</sup>-35R: *Capintec*;
- Cabine de fluxo laminar.
- Placa de aquecimento: *Fisatom*;
- Estufa: *FABBE*;
- Pipetas automáticas de 50 – 100 µL e 1 mL com pontas estéreis: *Gilson*;
- Gama-câmara, modelo *NuclideTH 22*: *Mediso*.

#### 4.1.2. Reagentes e solventes

- Solução fisiológica estéril (SFE) (NaCl 0,9%): *Sanobiol* e *JP Indústria Farmacêutica S.A.*
- Reagente liofilizado de DMSA (III): *IPEN-CNEN/SP*.

Composição: 1,0 mg de DMSA (ácido dimercaptossuccínico), 0,44 mg de SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (cloreto estano di-hidratado), 0,70 mg de ácido ascórbico (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) e 50,0 mg de inositol.

- Cloreto estano di-hidratado ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ): *Quimex*
- Meso – 2,3 ácido dimercaptosuccínico, 98% ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{S}_2$ )
- Ácido Ascórbico ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ): *Merck*
- Bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ): *Merck*
- Ácido clorídrico fumegante 37% ( $\text{HCl}$ ): *Merck*
- Hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ): *Merck*
- n-butanol: *Merck*
- Ácido Acético 100% ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ): *Merck*
- Glicina 99+%: *Aldrich Chemical Company*
- Acetona: CAAL (Casa Americana de Artigos para Laboratórios LTDA).
- Di-Oxalato de sódio ( $\text{C}_2\text{Na}_2\text{O}_4$ ): *Merck*
- Nitrogênio gasoso (> 99,9% pureza): *White Martins*

#### 4.1.3. Solventes e soluções

- Solução  $\text{HCl}$  0,1 N
- Solução  $\text{HCl}$  2 N
- Solução  $\text{NaOH}$  1 N
- Solução  $\text{NaHCO}_3$  7%
- Solução Glicina 5%
- Solução n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:2:3)

#### 4.1.4. Outros

- Gerador de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ : IPEN – TEC. O volume de eluição é de 6mL em solução salina a 0,9%.
- Gerador de  $^{188}\text{W}$ - $^{188}\text{Re}$ : Polatom.
- Cubas de vidro com tampa para fitas cromatográficas
- Fita indicadora de pH: *Merck*
- Fitas para cromatografia em camada delgada de sílica gel - alumínio (TLC-SG – *thin-layer chromatography, sílica gel*): *Merck*.
- Material plástico descartável (ponteiras e seringas).
- Vidraria de laboratório em geral.

#### 4.1.5. Animais

- Ratos Wistar, sadios, adultos, machos, pesando 200-250 g e 2 meses de idade: biotério IPEN-CNEN/SP.

### 4.2. Métodos

#### 4.2.1. Pureza radioquímica do $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V)

A pureza radioquímica pode ser definida como a fração da radioatividade total na forma química desejada presente no radiofármaco. As impurezas radioquímicas têm origem na decomposição dos radiofármacos, devido à ação do solvente, temperatura, pH, luz, presença de agentes oxidantes ou redutores e radiólise [4]. A presença deste tipo de impureza pode ocasionar padrões de biodistribuição diferentes ao esperado, produzindo em consequência: diminuição da qualidade da imagem, aumento da dose absorvida pelo paciente e dificuldades na interpretação diagnóstica, por isso sua determinação é de suma importância. Neste trabalho, o valor da pureza radioquímica reflete o rendimento de marcação.

As impurezas radioquímicas são determinadas por métodos analíticos, tais como cromatografia em papel, camada fina, gel, troca iônica, electroforese ou extração por solventes e CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) [3].

As impurezas radioquímicas formadas decorrentes do processo de marcação do kit de DMSA(V) por  $^{99m}\text{Tc}$  podem ser o próprio pertechnetato ( $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ), decorrente da sua não redução; o óxido de tecnécio ( $\text{TcO}_2$ ), também denominado de tecnécio hidrolisado e o  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(III).

As técnicas mais utilizadas na determinação da pureza radioquímica do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) são a Cromatografia em Camada Fina (TLC-SG) e Cromatografia em Papel (Whatman). Nesses dois tipos de cromatografia cada espécie da amostra é caracterizada pelo valor do  $R_f$  (fator de retenção), que é a relação da distância percorrida por cada espécie química pela distância percorrida pelo solvente.

A TAB. 8 mostra os métodos cromatográficos de determinação da pureza radioquímica do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) encontrados na literatura e o utilizado na rotina do Centro de Radiofarmácia do IPEN-CNEN/SP.

**TABELA 8** – Sistemas cromatográficos de determinação da pureza radioquímica do  $^{99m}\text{Tc-DMSA(V)}$ .

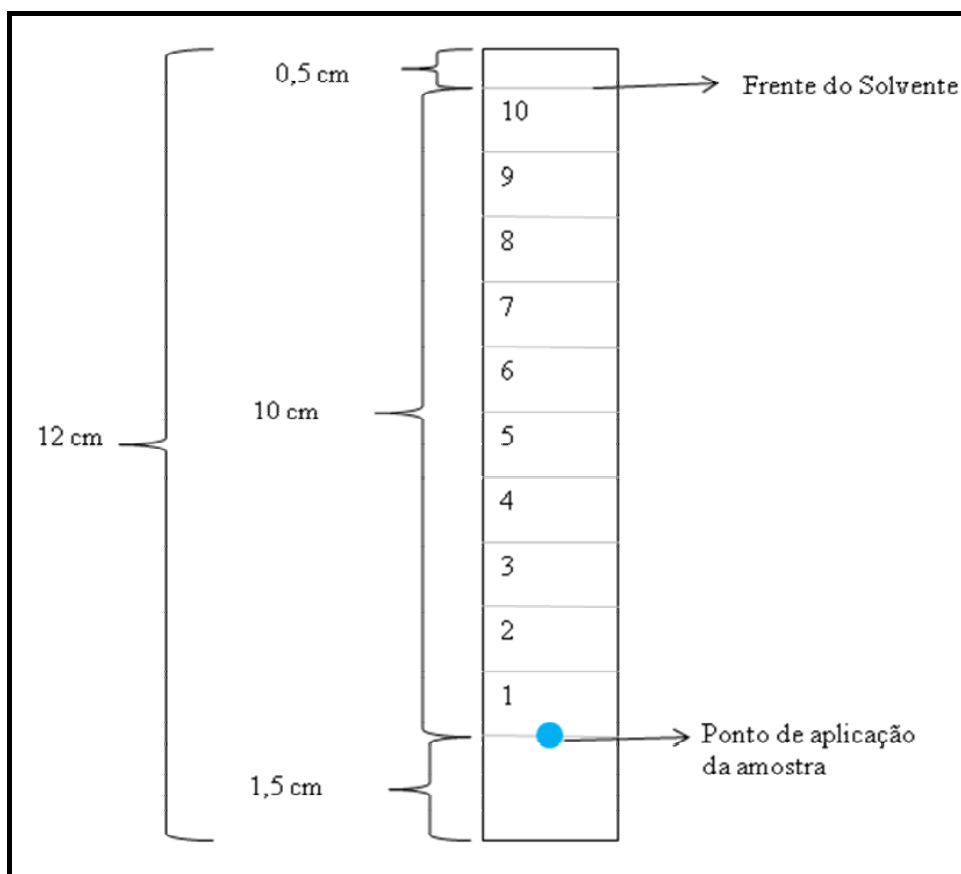
	Suporte	Solvente	Rf das espécies			
			$^{99m}\text{Tc-DMSA(V)}$	$^{99m}\text{Tc-DMSA(III)}$	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	$^{99m}\text{TcO}_2$
<b>IPEN</b> <sup>[34]</sup>	Whatman 3	Acetona	-	-	1	-
	Whatman 3	NaCl a 0,9%	-	-	-	0
	TLC-SG	n-butanol/ ac. Acético/ H <sub>2</sub> O (3:2:3)	-	0	-	-
<b>Adans</b> <sup>[17]</sup>	TLC-SG	n-butanol/ ac. Acético/ H <sub>2</sub> O (3:2:3)	0,66	-	-	-
<b>Horiuchi</b> <sup>[23]</sup>	TLC-SG	n-butanol/ ac. Acético/ H <sub>2</sub> O (3:2:3)	0,43 - 0,55	-	0,65 - 0,7	-
<b>Chauhan</b> <sup>[18]</sup>	ITLC-SG	NaCl a 0,9%	“1”	-	“1”	“0”
<b>Hirano</b> <sup>[15]</sup>	TLC-SG	n-butanol/ ac. Acético/ H <sub>2</sub> O (3:2:3)	0,45 - 0,55	0 - 0,1	0,8 - 0,9	-
	TLC-SG	H <sub>2</sub> O	“1”	“1”	“1”	“0”
<b>Mushtaq</b> <sup>[19]</sup>	Whatman 1	Acetona	0	0	0,9 - 1	-
	TLC-SG	n-butanol/ ac. Acético/ H <sub>2</sub> O (3:2:3)	0,5	0	0,7	-

Neste trabalho foi utilizada a técnica descrita por Hirano et al <sup>[15]</sup>. O  $R_f$  de diferentes espécies foi confirmado experimentalmente, em particular o  $R_f$  do  $\text{TcO}_2$  no solvente n-butanol/ ácido acético/  $\text{H}_2\text{O}$  (3:2:3), que não está descrito na publicação original. Para realizar este experimento uma grande quantidade de  $\text{TcO}_2$  foi preparada através da mistura de uma grande massa de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  com  $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ . O  $R_f$  do  $^{99m}\text{Tc-DMSA(III)}$  foi confirmado através da marcação de um kit comercial de acordo com as instruções da bula. Foi realizado um experimento onde a determinação da pureza radioquímica foi feita pela técnica utilizada na rotina do Centro de Radiofarmácia do IPEN-CNEN/SP, com o objetivo de verificar a eficiência da técnica utilizada neste trabalho.

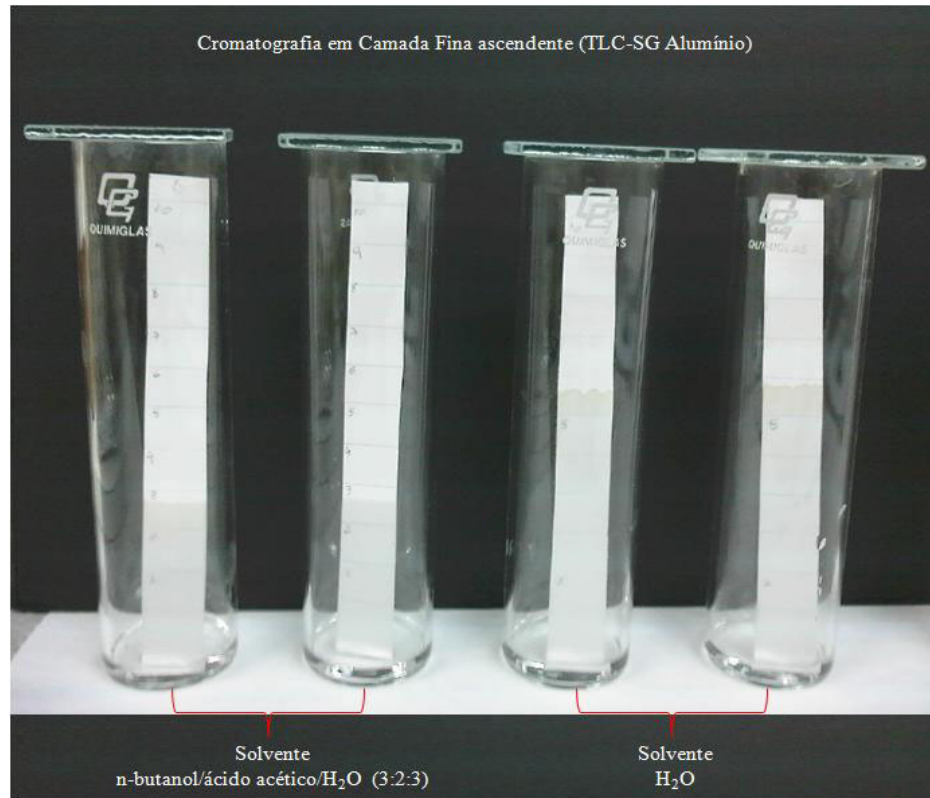
#### ❖ Preparo das fitas cromatográficas

O suporte de TLC-SG com base de Al é cortado em fitas de 1,5 cm de largura por 12 cm de altura. São marcadas linhas com lápis, a 1,5 cm da base, e 10 cm depois desta marca (FIG.11). As fitas são ativadas durante 30 minutos por aquecimento a 110°C na estufa. Os solventes ( $\text{H}_2\text{O}$  e n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$ ) são colocados em cubas de vidro, em quantidades suficientes para cobrir o fundo. As cubas são mantidas fechadas para saturação do meio. A superfície onde serão desenvolvidos os ensaios cromatográficos deve estar limpa e coberta com papel absorvente e limpo. Uma pequena quantidade da amostra do  $^{99m}\text{Tc-DMSA(V)}$  em forma de gota é colocada na fita do suporte

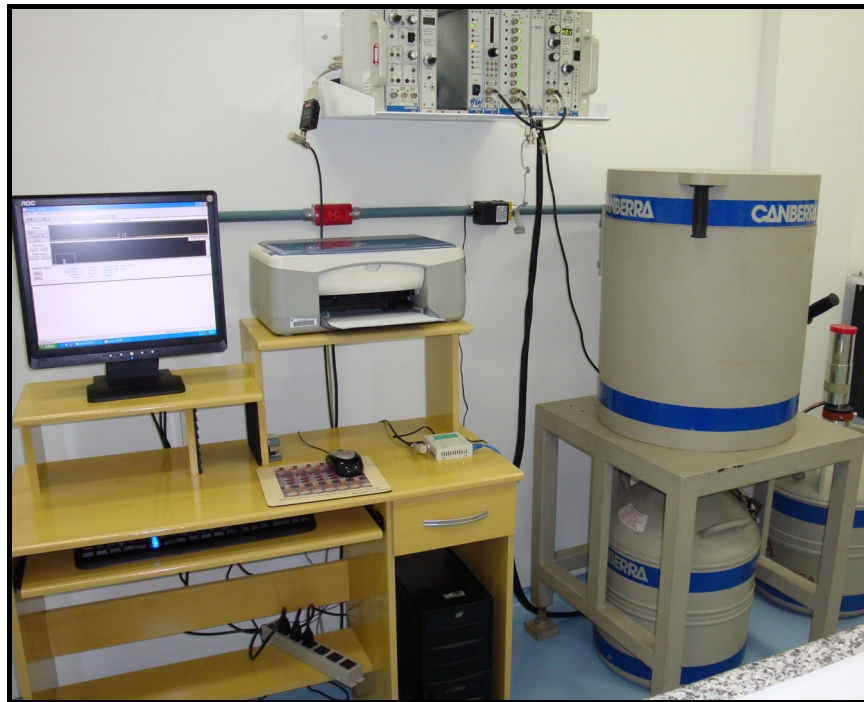
cromatográfico (TLC-SG) com tubo capilar, no centro da marca de origem da fita. Para cada solvente, esse procedimento é feito em duplicata, sendo assim é necessária a utilização de quatro fitas (TLC-SG) para cada experimento. Depois que a gota seca, cada fita é levada para uma cuba, encostando-a com cuidado no fundo da mesma, de forma a deixá-la inclinada. Novamente as cubas são mantidas fechadas (FIG.12). Os solventes sobem por capilaridade, sem agitação ou interferência na cuba. Quando os solventes migrarem até a distância desejada, retiram-se as fitas das cubas, deixando-as secar sobre papel toalha. As fitas são cortadas em segmentos e cada segmento é contado no detector de Germânio hiper puro (*Canberra*) utilizando o pico de 141 keV do  $^{99m}\text{Tc}$  (FIG.13). A fita utilizada na determinação do  $\text{TcO}_2$  foi cortada ao meio e para as espécies do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(III),  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) e o  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  foram cortadas em dez segmentos.



**FIGURA 11** – Representação da fita cromatográfica utilizada no controle da pureza radioquímica.



**FIGURA 12** – Sistema de cromatografia em camada fina ascendente utilizado na determinação da pureza radioquímica da marcação do DMSA(V) com <sup>99m</sup>Tc.



**FIGURA 13** – Detector de Germânio hiper puro (*Canberra*) utilizado para medir a radiação dos segmentos das fitas cromatográficas.

### ❖ Cálculo da pureza radioquímica (PR)

O cálculo da pureza radioquímica (PR) foi feito através da seguinte equação:

$$\text{PR(\%)} = [100 - \text{média \% TcO}_2 - \text{média \% } ^{99\text{m}}\text{Tc-DMSA(III)} - \text{média \% } ^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-] \quad (\text{Equação 1})$$

➤ Fita TLC-SG (Alumínio) - solvente H<sub>2</sub>O (duplicata)

$$\% \text{ TcO}_2 = (\text{C1}/\text{C1}+\text{C2}) * 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde: C1 = contagem da parte inferior da fita

C2 = contagem da parte superior da fita

⇒ **Calcula-se a média da % TcO<sub>2</sub>.**

➤ Fita TLC-SG (Alumínio) - solvente n-butanol/ácido acético/H<sub>2</sub>O (3:2:3) (duplicata)

$$\% \text{ } ^{99\text{m}}\text{Tc-DMSA(III)} = \{[(\text{S1}/\text{S1}+\text{S2}+\text{S3}) * 100] - \text{média \% TcO}_2\} \quad (\text{Equação 3})$$

$$\% \text{ } ^{99\text{m}}\text{TcO}_4^- = (\text{S3}/\text{S1}+\text{S2}+\text{S3}) * 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

S1 = contagem referente aos segmentos onde se encontram o <sup>99m</sup>Tc-DMSA(III) e TcO<sub>2</sub>

S2 = contagem referente aos segmentos onde se encontra o <sup>99m</sup>Tc-DMSA(V)

S3 = contagem referente aos segmentos onde se encontra o <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>

⇒ **Calcula-se a média da % <sup>99m</sup>Tc-DMSA(III).**

⇒ **Calcula-se a média da % <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>.**

Na fita de TLC-SG (Al) usando como solvente a mistura de n-butanol/ácido acético/H<sub>2</sub>O (3:2:3) o TcO<sub>2</sub> permanece na origem junto com o <sup>99m</sup>Tc-DMSA(III), por isso é necessário subtrair a porcentagem encontrada de TcO<sub>2</sub> da % <sup>99m</sup>Tc-DMSA(III).

Existem 2 valores de limite de aceitação para <sup>99m</sup>Tc-DMSA(V): PR(%) ≥ 90, do Manual de Controle de Qualidade da IAEA [36] e da produção rotineira do IPEN [34] e o valor ≥ 85% do Relatório Técnico da IAEA [37].

#### 4.2.2. Preparação do kit DMSA (V) e marcação com <sup>99m</sup>Tc

O <sup>99m</sup>Tc-DMSA(V) pode ser preparado por dois métodos diferentes: pela formulação indireta e formulação direta. A formulação indireta utiliza um kit comercial de



$^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (III) mais um determinado volume de  $\text{NaHCO}_3$  para elevar o pH do kit de 2,5 para  $\sim 8,5$ . A formulação direta é uma formulação liofilizada já pronta para marcação com  $^{99m}\text{Tc}$ . Neste trabalho a formulação indireta foi utilizada apenas para comparar os resultados da eficiência de marcação e estabilidade com os da formulação direta.

Após a marcação, foram efetuados os controles de pureza radioquímica (item 4.2.1) que refletem diretamente o rendimento da marcação em cada experimento. Os rendimentos de marcação foram comparados para alcançar a otimização da marcação.

#### 4.2.2.1. Formulação Indireta

A maioria dos trabalhos encontrados na literatura utiliza este método para a preparação do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) [15,16,17,18,23,33,34].

$^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) foi preparado utilizando um kit comercial de  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (III) do IPEN-CNEN/SP. O kit foi retirado do refrigerador até que adquirisse a temperatura ambiente, depois foi dissolvido com 0,3 mL de solução salina e seu pH elevado para 8,5 com 0,05 mL de  $\text{NaHCO}_3$  7%. Em seguida, foi adicionado 1 mL ( $\sim 555$  MBq/ 15 mCi) de  $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4^-$  eluído do gerador de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99m}\text{Tc}$ . A solução foi agitada e incubada à temperatura ambiente por 30 minutos. Amostras então foram retiradas para se realizar controle de qualidade da pureza radioquímica.

As variáveis estudadas foram:

- Volume de  $\text{NaHCO}_3$ , com conseqüente variação do pH, para valores entre 7 e 9. (0,02 mL de  $\text{NaHCO}_3$  7% para pH 7; 0,05 mL para pH 8,5; 0,2 mL para pH 9).
- Ordem de adição de  $\text{NaHCO}_3$  e  $^{99m}\text{Tc}$ .
- Atividade do  $^{99m}\text{Tc}$ : 370 MBq a 2960 MBq (10 mCi a 80 mCi).
- Tempo de reação e estabilidade da marcação: até 4 horas.

#### 4.2.2.2. Formulação direta

Em 2000, Mushtaq et al.<sup>[19]</sup> descreveram a formulação de um kit liofilizado para o  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) conseguindo 95% de rendimento de marcação a partir desta formulação, que apresentava 1,8 mg de DMSA e 1,12 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (pH  $8,6 \pm 1$ ). Essa foi a formulação padrão inicial para este trabalho, que primeiramente foi estudada em meio

líquido e após a otimização de algumas variáveis, foi estudada a liofilização da melhor composição.

#### 4.2.2.2.1. Kit líquido

O estudo foi primeiramente realizado com a formulação padrão na forma líquida. O DMSA foi dissolvido em  $\text{NaHCO}_3$  7% (2,25mg/mL), e o  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  foi dissolvido em HCl 0,1N (5,6mg/mL) e nitrogenado por 20 minutos. Para preparação do kit seguiu-se o procedimento descrito abaixo:

1. Pegou-se 0,8 mL da solução de DMSA e adicionou-se 0,2 mL da solução do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .
2. O pH do kit foi ajustado para 9,5 com 0,1 mL de NaOH 1N.
3. Em seguida, foi adicionado 1 mL (~555 MBq/ 15 mCi) de  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  eluído do gerador de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ .
4. A solução foi agitada e incubada por 30 minutos à temperatura ambiente.
5. Amostras então foram retiradas para se realizar controle de qualidade da pureza radioquímica.

As variáveis estudadas foram:

- a) Massa do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : 1,12; 0,56; 0,28 e 0,14 mg.
- b) O pH - entre 7 e 10 (0,2 mL HCl 2N para pH 7; 0,05 mL de NaOH 1N para pH 9; 0,1 mL de NaOH 1N para pH 9,5 e 0,2 mL de NaOH para pH 10).
- c) Massa do DMSA: 0,9; 1,8 e 3,6 mg.
- d) Volume do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ : 1 e 2 mL.
- e) Atividade do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ : 370 MBq a 3700 MBq (10mCi a 100mCi).
- f) Tempo de reação e estabilidade da marcação: até 2hs.

##### 4.2.2.2.1.1. Solução mãe do kit líquido

Após analisar as melhores condições de marcação do kit preparado em um volume pequeno (1,05 mL), foi preparado uma solução mãe do kit (10,50 mL) de onde foi retirado 1 mL e marcado com o  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ . Esse procedimento foi realizado para verificar se o kit preparado em uma solução maior e fracionado em 1 mL apresentava os mesmos resultados daquele já preparado em um volume pequeno. O DMSA foi dissolvido em  $\text{NaHCO}_3$  7%

(2,25mg/mL), e o  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  foi dissolvido em HCl 0,1N (2,8 mg/mL) e nitrogenado por 20 minutos. Para preparação da solução mãe do kit seguiu-se o procedimento descrito abaixo:

1. Pegou-se 8 mL da solução de DMSA e adicionou-se 2 mL da solução do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .
2. O pH da solução mãe foi ajustado para 9 com 0,5 mL de NaOH 1N.
3. Retirou-se 1 mL dessa solução mãe e em seguida, foi adicionado 1 mL (~555 MBq/15 mCi) de  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$  eluído do gerador de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ .
4. A solução foi agitada e incubada por 30 minutos à temperatura ambiente.
5. Amostras então foram retiradas para se realizar controle de qualidade da pureza radioquímica.

As variáveis estudadas foram:

- a) Influência da presença de agente estabilizante (ácido ascórbico)
- b) Filtração (Millipore) e Nitrogenação.

#### **4.2.2.2.1.2. Solução mãe do kit líquido preparada com solução de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ congelada**

O objetivo de preparar um kit utilizando solução de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  congelada foi de avaliar se o rendimento de marcação desse kit preparado com essa solução congelada apresentava os mesmos rendimentos de marcação do kit preparado com a solução fresca, verificando assim se a solução congelada permanecia estável e por quanto tempo. Isto facilitaria a produção rotineira.

O  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  foi dissolvido em HCl 0,1N (2,8mg/mL) e nitrogenado por 20 minutos, em seguida foi levado ao congelador. Para realizar a preparação do kit, a solução de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  foi retirada do congelador e deixada em temperatura ambiente até o seu total descongelamento. O DMSA foi dissolvido em  $\text{NaHCO}_3$  7% (2,25mg/mL). Para preparação da solução mãe do kit seguiu-se o procedimento descrito abaixo:

1. 8,75mg de ácido ascórbico foi dissolvido em 8 mL da solução de DMSA.
2. Adicionou-se 2 mL da solução do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .
3. O pH da solução mãe foi ajustado para 9 com 0,5 mL de NaOH 1N.
4. A solução mãe foi nitrogenada por 20 minutos.

5. Retirou-se 1 mL dessa solução mãe e em seguida, foi adicionado 1 mL (~555 MBq/ 15 mCi) de  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$  eluído do gerador de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ .
6. A solução foi agitada e incubada por 30 minutos à temperatura ambiente.
7. Amostras então foram retiradas para se realizar controle de qualidade da pureza radioquímica.

Foi estudado o tempo de congelamento da solução de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : 1 e 2 meses.

#### 4.2.2.2.2. Kit liofilizado

Primeiramente a formulação escolhida para ser liofilizada continha 1,8 mg de DMSA, 0,28 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e pH 9 (lote S-1). Posteriormente, foram liofilizados mais cinco lotes, com três formulações diferentes, duas variando a massa do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : 0,56 e 0,42 mg, (lote S-2 e S-3), e a outra utilizando 0,56 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , mas com a presença de agente estabilizante (0,83 mg de ácido ascórbico) (lote C-1). Os outros dois lotes C-2 e C-3 foram preparados com a mesma formulação do lote C-1. Cada formulação foi preparada em um volume de 10 mL e o pH ajustado para 9, e a solução foi então filtrada em Millipore. Depois foi realizado o fracionamento em frascos de vidro estéreis (tipo penicilina – pré-resfriados) e em seguida foram congelados e submetidos ao processo de liofilização durante 24 horas. Após liofilizados, os kits foram armazenados em refrigerador. Para a realização da marcação, o kit foi retirado do refrigerador até que adquirisse a temperatura ambiente, em seguida foi adicionado 1 mL (~555 MBq/ 15 mCi) de  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$  eluído do gerador de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . A solução foi agitada e incubada à temperatura ambiente. Amostras então foram retiradas para se realizar controle de qualidade da pureza radioquímica.

As variáveis estudadas foram:

- a) Massa do agente redutor: 0,28, 0,42 e 0,56mg.
- b) Volume do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ : 1mL e 2 mL (lote C-1)
- c) Atividade do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ : 370 MBq a 4736 MBq (10mCi a 128mCi) (lote C-1)
- d) Tempo de reação e estabilidade da marcação: até 4 horas (lote C-1)
- e) Estabilidade do kit – pelo menos 3 meses de estocagem (lotes S-2, C-1, C-2 e C-3)

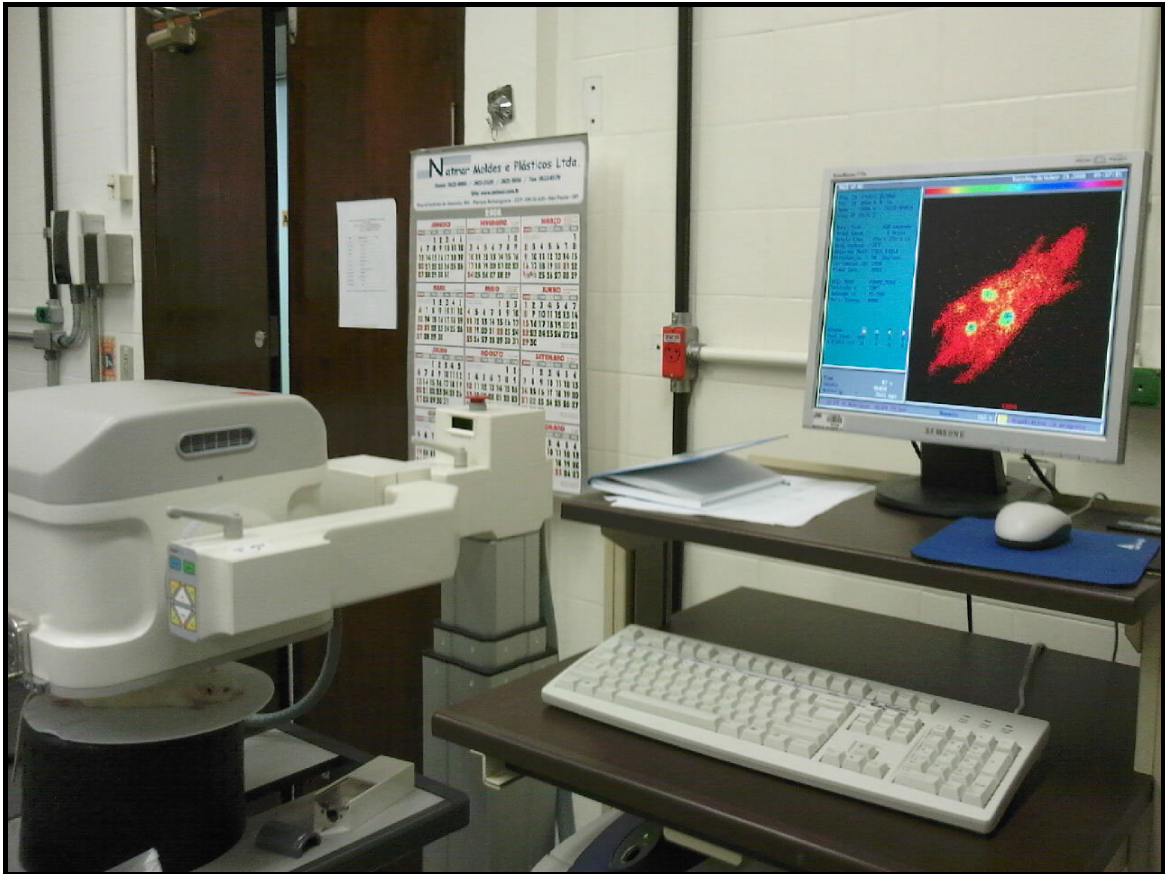
Como citado anteriormente, o parâmetro de análise para todos os experimentos foi o rendimento da marcação, que foi avaliado pelo controle da pureza radioquímica.

#### 4.2.3. Controle biológico: imagem cintilográfica e biodistribuição do $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V)

Para comprovar a qualidade do produto final, desenvolvido neste trabalho, foi feito o controle biológico do kit de DMSA(V) e os resultados foram comparados com o da rotina do IPEN.

Os estudos da imagem cintilográfica e da biodistribuição foram realizados com 3 ratos sadios (*Wistar* com 200-250 g e 2 meses de idade). As imagens foram adquiridas em uma gama-câmara no Centro de Radiofarmácia do IPEN/CNEN-SP (FIG.14).

O kit de DMSA (V) (lote C-3), foi marcado com 1 mL de  $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$  com atividade de 481 MBq (13 mCi) e foi deixado reagindo por 30 minutos à temperatura ambiente para então ser administrado, via intravenosa, na veia caudal de cada rato com uma atividade por volta de 5,5 MBq (1,5 mCi) e volume médio de 0,1 mL. Após 1 hora da administração do radiofármaco os ratos foram anestesiados com Uretana para a aquisição das imagens. O tempo de aquisição de cada imagem foi de 3 minutos. Logo após a cintilografia os ratos foram sacrificados, os órgãos separados, pesados e a atividade de alguns órgãos de interesse, como rins, fígado e fêmur, foi medida em um calibrador de dose (Capintec) (FIG.15).



**FIGURA 14** – Gama câmara (Mediso, Nucline TH22, Hungria) e sistema de aquisição e processamento de imagens utilizada nas imagens dos ratos *sadios Wistar* com radiofármaco  $^{99m}\text{Tc-DMSA(V)}$ .



**FIGURA 15** - Calibrador de dose (Capintec) utilizado para medir a atividade dos órgãos dos ratos.

Segundo a Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA - International Atomic Energy Agency) [38] a biodistribuição normal do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) em ratos após 1 hora de administração do radiofármaco deve apresentar um valor de porcentagem de dose injetada por órgão (%d.i./órgão) para os rins  $< 10$  e para o fígado  $< 2$  e um valor de % d.i./g para o fêmur  $> 1,5$ .

O índice de aceitação de % d.i./órgão utilizado pelo Controle da Qualidade do Centro de Radiofarmácia do IPEN para a biodistribuição do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) em ratos após 1 hora de administração do radiofármaco apresenta os seguintes valores: Rins  $\leq 20,0$ ; Fígado  $\leq 3,0$ ; Baço  $\leq 1,0$ ;  $\leq$  Fêmur 1,5 e Carcaça  $\leq 70$ .

#### 4.2.4. Determinação de Sn(II) em kit liofilizado de DMSA(V) para marcação com $^{99m}\text{Tc}$

Foram realizadas análises polarográficas para determinação de Sn(II) em 3 lotes (S-1, S-2 e S-3) dos kits liofilizados de DMSA(V), conforme metodologia estabelecida pelo Controle de Qualidade do Centro de Radiofarmácia do IPEN-CNEN/SP.

#### 4.2.5. Pureza radioquímica do $^{188}\text{Re}$ -DMSA (V)

As impurezas radioquímicas formadas decorrentes do processo de marcação do kit de DMSA(V) por  $^{188}\text{Re}$  podem ser o próprio perrenato ( $^{188}\text{ReO}_4^-$ ), decorrente da sua não redução e o óxido de rênio ( $^{188}\text{ReO}_2$ ), também denominado de rênio hidrolisado.

A pureza radioquímica foi determinada pela técnica de cromatografia em camada fina ascendente, utilizando como suporte a fita TLC-SG (Al) e como solvente acetona para separar  $\text{ReO}_4^-$  ( $R_f$  1) do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) e  $\text{ReO}_2$  ( $R_f$  0), e glicina 5% usada para separar  $\text{ReO}_2$  ( $R_f$  0) do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) and  $\text{ReO}_4^-$  ( $R_f$  1) [31].

O  $R_f$  das espécies foi confirmado experimentalmente nos dois solventes. Para realizar o estudo com o  $^{188}\text{ReO}_2$  misturou-se 1 mL de solução de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (56 mg/mL) com 1 mL de  $^{188}\text{ReO}_4^-$ .

A preparação das fitas seguiu os processos descritos no item 4.2.1.

#### 4.2.6. Preparação do $^{188}\text{Re}$ -DMSA (V)

O modo de preparo do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) é diferente do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V), pois tem que ser preparado em meio ácido e não básico. O kit comercial de DMSA (III) utilizado para marcação com  $^{99m}\text{Tc}$ , por apresentar um pH ácido, pode ser usado para a preparação do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V).

Neste trabalho o  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) foi preparado por dois métodos diferentes, um deles utilizando um kit comercial de  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (III), chamado neste trabalho de método I, e o outro utilizando uma formulação líquida baseada no trabalho de Bolzati et al. [29], o qual foi chamado de método II.



#### 4.2.6.1. Método I

$^{188}\text{Re}$ -DMSA (V) foi preparado utilizando um kit comercial de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (III) do IPEN-CNEN/SP. Composição do kit: 1,0 mg de DMSA, 0,44 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,70 mg de ácido ascórbico e 50,0 mg de inositol. O kit foi retirado do refrigerador até que adquirisse a temperatura ambiente, depois foi marcado com 1 mL (~111 MBq/ 3 mCi) de  $^{188}\text{ReO}_4$  eluído do gerador de  $^{188}\text{W}$ - $^{188}\text{Re}$ . A solução foi agitada e aquecida por 30 minutos em banho maria. Amostras então foram retiradas para realizar o controle de qualidade da pureza radioquímica.

As variáveis estudadas foram:

- Temperatura de reação: ambiente e  $100^\circ\text{C}$  (banho maria) para o tempo de 30 minutos.
- Tempo da reação: 20 e 30 minutos.
- Volume do  $^{188}\text{Re}$ : 1 mL e 2 mL.
- Estabilidade de marcação: 1, 2, 4 e 24 horas armazenado em temperatura ambiente e em gelo seco.

#### 4.2.6.2. Método II

A formulação do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) descrita por Bolzati et al. [29] continha 0,2 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 2,5 mg de DMSA, 10 mg de  $\gamma$ -ciclodextrina e 13 mg de oxalato de potássio. O pH da solução foi mantido por volta de 5 e marcado com 0,25 mL  $^{188}\text{ReO}_4$  com atividade de 50 à 500 MBq (1,35 a 13,50 mCi), e tempo de reação de apenas 15 minutos sem aquecimento. Foi conseguido 95% de rendimento de marcação com essa formulação.

A formulação do presente trabalho baseou-se nessa formulação descrita por Bolzati et al [29] e foi preparada com 2,5 mg de DMSA, 1 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e 30 mg de oxalato de sódio. O DMSA foi dissolvido em  $\text{NaHCO}_3$  7% (25 mg/mL) e o  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  foi dissolvido em uma solução de oxalato de sódio (30 mg/mL) em uma concentração de 1 mg/mL e foi nitrogenado por 20 minutos. Para preparação do kit seguiu-se o procedimento descrito abaixo:

1. Pegou-se 1 mL da solução do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e adicionou-se 0,1 mL da solução de DMSA.
2. O pH do kit foi ajustado para 5 com 0,01 mL de HCl 37%.

3. Em seguida, foi adicionado 1 mL (~111 MBq/ 3 mCi) de  $^{188}\text{ReO}_4$  eluído do gerador de  $^{188}\text{W}$ - $^{188}\text{Re}$ .
4. A solução foi agitada e incubada por 15 minutos à temperatura ambiente.
5. Amostras então foram retiradas para se realizar controle de qualidade da pureza radioquímica.

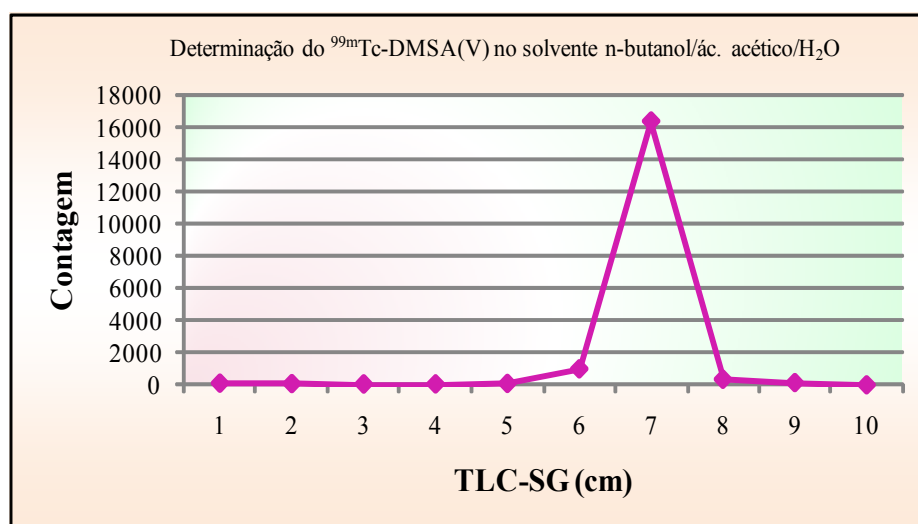
As variáveis estudadas foram: massa do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,2; 0,6; 1,0; 1,5 e 2,0 mg), massa do DMSA (1,25; 2,5 e 5 mg).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Pureza Radioquímica do $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V)

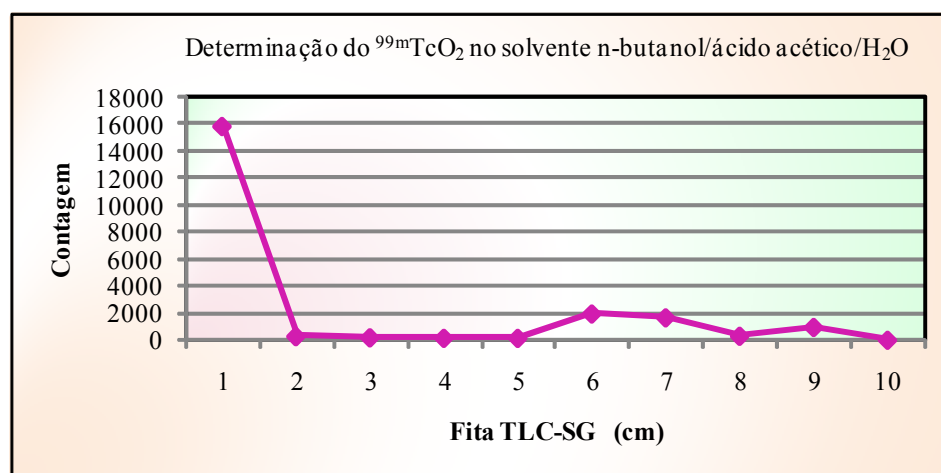
A pureza radioquímica do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) foi avaliada pela técnica de cromatografia em camada fina (TLC-SG), utilizando dois sistemas de solventes, a mistura n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:2:3) para determinar o  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(III),  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) e o  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ , e a água para determinação do  $^{99m}\text{TcO}_2$ . Cada espécie foi avaliada nos dois solventes para a verificação e confirmação dos seus respectivos  $R_f$ .

A FIG.16 mostra o radiofármaco  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) avaliado no solvente n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:2:3). Pode-se observar que o pico de radiação maior referente a esta espécie está no segmento 7. No cálculo realizado para determinação da pureza radioquímica foram consideradas as contagens dos segmentos 5, 6, 7 e 8 como sendo o  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V).



**FIGURA 16** – Determinação do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) na fita TLC-SG utilizando como solvente a mistura de n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:2:3).

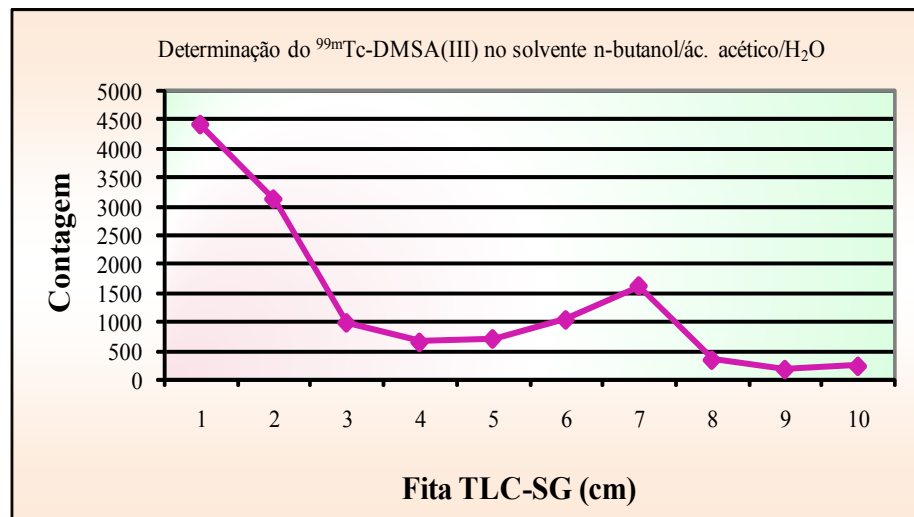
Na literatura não foi encontrado informação do  $R_f$  do  $^{99m}\text{TcO}_2$  no solvente n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$ . Para realizar este estudo misturou-se 1 mL de solução de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (5 mg/mL) com 1 mL de  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ . Observou-se que o  $^{99m}\text{TcO}_2$  permaneceu na origem, conforme mostrado na FIG.17. Observa-se também picos no segmento 6 (provavelmente outra espécie do  $^{99m}\text{Tc}$ ) e 9 ( $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ).



**FIGURA 17** – Determinação do  $^{99m}\text{TcO}_2$  na fita TLC-SG utilizando como solvente a mistura de n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:2:3).

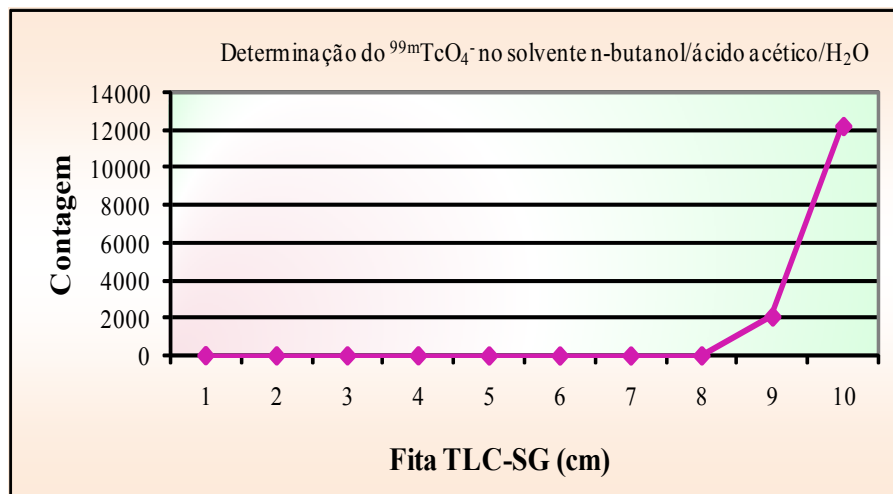
Para confirmar se o  $^{99m}\text{Tc-DMSA(III)}$  realmente ficava na origem utilizando o solvente n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:2:3), conforme informado na literatura, marcou-se um kit comercial de  $^{99m}\text{Tc-DMSA(III)}$ . Pode-se observar na FIG.18 que o maior pico de radiação encontrado realmente está na origem, mas existe um arraste considerável até o segmento 2 dessa impureza. Observou-se também um pico no segmento 7 de uma espécie desconhecida, provavelmente  $^{99m}\text{Tc-DMSA(V)}$  ou alguma espécie reduzida do  $^{99m}\text{Tc}$ .

Para o cálculo da porcentagem do  $^{99m}\text{Tc-DMSA(III)}$  existente na marcação de  $^{99m}\text{Tc-DMSA(V)}$  utilizou-se os valores da contagem encontrados no segmento 1 e 2 e subtraiu-se a porcentagem de  $^{99m}\text{TcO}_2$  encontrada na fita utilizando água como solvente, já que foi provado que esta espécie permanece na origem junto com o  $^{99m}\text{Tc-DMSA(III)}$  quando utilizado o solvente n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:2:3).



**FIGURA 18** – Determinação do  $^{99m}\text{Tc-DMSA(III)}$  na fita TLC-SG utilizando como solvente a mistura de n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:2:3).

A FIG.19 mostra o  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  na fita TLC-SG com o solvente n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:2:3). Observa-se que o maior pico encontra-se na frente do solvente, que é o segmento 10. Para o cálculo da porcentagem dessa impureza na marcação, foram utilizados os valores da contagem encontrados nos segmentos 9 e 10.

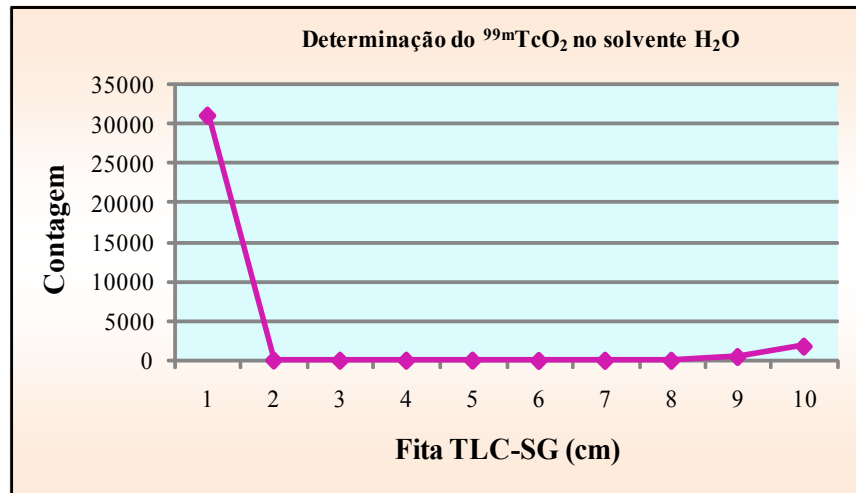


**FIGURA 19** – Determinação do  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  na fita TLC-SG utilizando como solvente a mistura de n-butanol/ácido acético/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:2:3).

A fita TLC-SG (Al) utilizando água como solvente é utilizada para determinação da porcentagem de  $^{99m}\text{TcO}_2$  na marcação. Na literatura é informado que o  $^{99m}\text{TcO}_2$  permanece na origem e as outras espécies migram para frente do solvente. Em todos os experimentos a

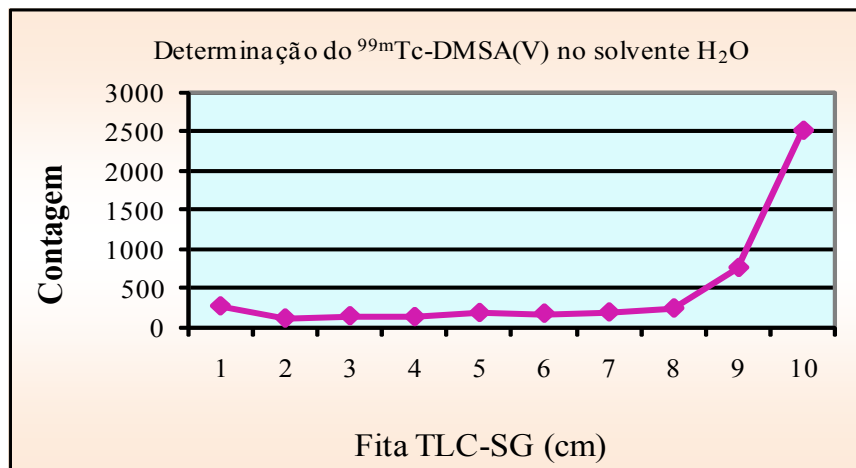
fita foi cortada ao meio para contagem da radiação, mas para se realizar a avaliação de cada espécie na fita, foi realizado o corte da mesma em 10 segmentos.

A FIG.20 mostra que o  $^{99m}\text{TcO}_2$  realmente permanece na origem.

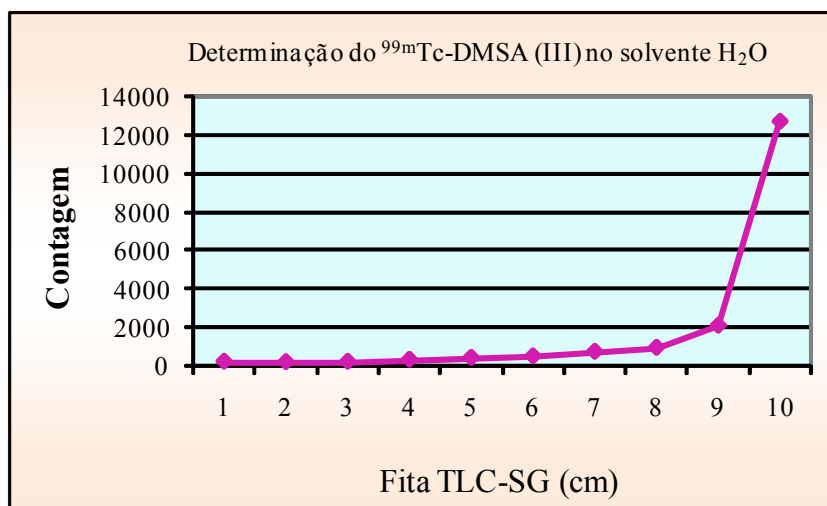


**FIGURA 20** – Determinação do  $^{99m}\text{TcO}_2$  na fita TLC-SG utilizando como solvente  $\text{H}_2\text{O}$ .

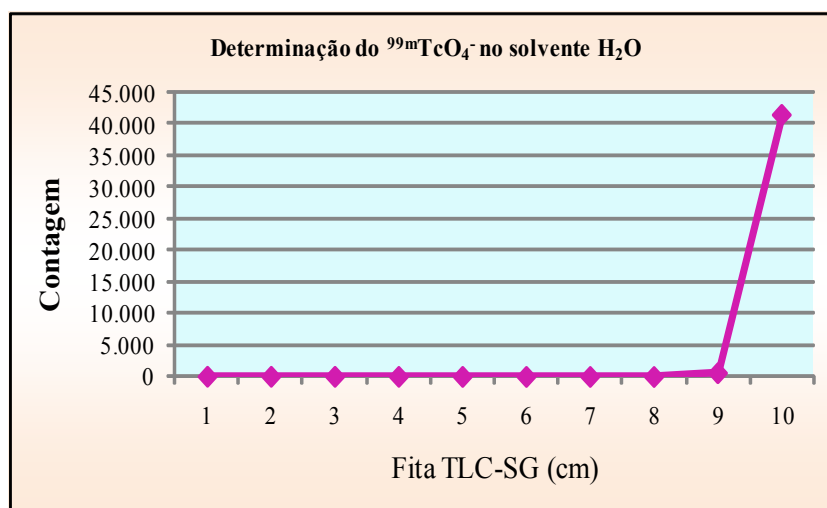
Foi confirmado que as outras espécies migram para frente do solvente, conforme mostrado nas FIG. 21, 22 e 23.



**FIGURA 21** – Determinação do radiofármaco  $^{99m}\text{Tc-DMSA(V)}$  na fita TLC-SG utilizando como solvente  $\text{H}_2\text{O}$ .



**FIGURA 22** – Determinação do  $^{99m}\text{Tc-DMSA(III)}$  na fita TLC-SG utilizando como solvente  $\text{H}_2\text{O}$ .



**FIGURA 23** – Determinação do  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  na fita TLC-SG utilizando como solvente  $\text{H}_2\text{O}$ .

A TAB. 9 mostra os  $R_f$  das espécies nos dois sistemas de solventes, determinados neste trabalho.

**TABELA 9** - R<sub>f</sub> das espécies formadas na preparação do <sup>99m</sup>Tc-DMSA(V)

Espécie	R <sub>f</sub>	
	n-butanol/ ac. Acético/ H <sub>2</sub> O (3:2:3)	H <sub>2</sub> O
<sup>99m</sup> Tc- DMSA (V)	0,6 - 0,7	1
<sup>99m</sup> Tc- DMSA (III)	0	1
<sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	1	1
<sup>99m</sup> TcO <sub>2</sub>	0	0

Na rotina do Centro de Radiofarmácia do Ipen é utilizado outra técnica para determinação da pureza radioquímica do <sup>99m</sup>Tc-DMSA(V). A cromatografia em papel *Whatman 3*, utilizando como solvente acetona para determinação do <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> (R<sub>f</sub> 1) e NaCl 0,9% para determinação do <sup>99m</sup>TcO<sub>2</sub> (R<sub>f</sub> 0). Para determinar a porcentagem de <sup>99m</sup>Tc-DMSA (III) é utilizado cromatografia em camada fina (TLC-SG) com o solvente n-butanol/ácido acético/H<sub>2</sub>O (3:2:3). Para verificar se a técnica utilizada neste trabalho é equivalente a utilizada pelo Controle de Qualidade do Centro de Radiofarmácia do Ipen, foi realizada a marcação de um kit liofilizado de <sup>99m</sup>Tc-DMSA(V), que foi avaliado pelas duas técnicas. Os resultados encontrados apresentaram valores iguais, de aproximadamente 95%, o que comprova que a técnica utilizada neste trabalho é tão eficiente quanto a utilizada pelo Controle de Qualidade do Centro de Radiofarmácia, sendo até mais simples, pois utiliza apenas 2 sistemas de solvente.

## 5.2. Preparação do kit DMSA (V) e marcação com <sup>99m</sup>Tc

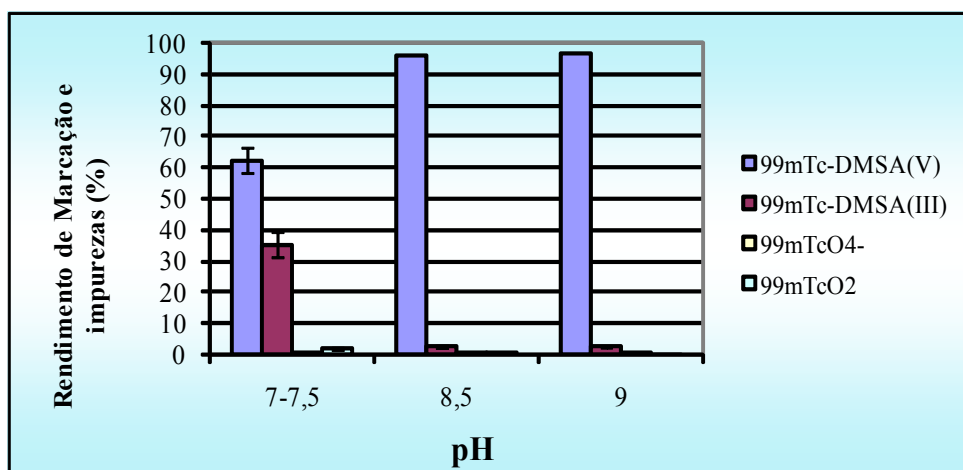
### 5.2.1. Formulação Indireta

A formulação indireta foi preparada utilizando o kit comercial <sup>99m</sup>Tc -DMSA (III) do IPEN-CNEN/SP. Composição do kit: 1,0 mg de DMSA (ácido dimercaptossuccínico), 0,44 mg de SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (cloreto estanoso di-hidratado), 0,70 mg de ácido ascórbico (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) e 50,0 mg de inositol.



### a) Volume de $\text{NaHCO}_3$ , com conseqüente variação do pH

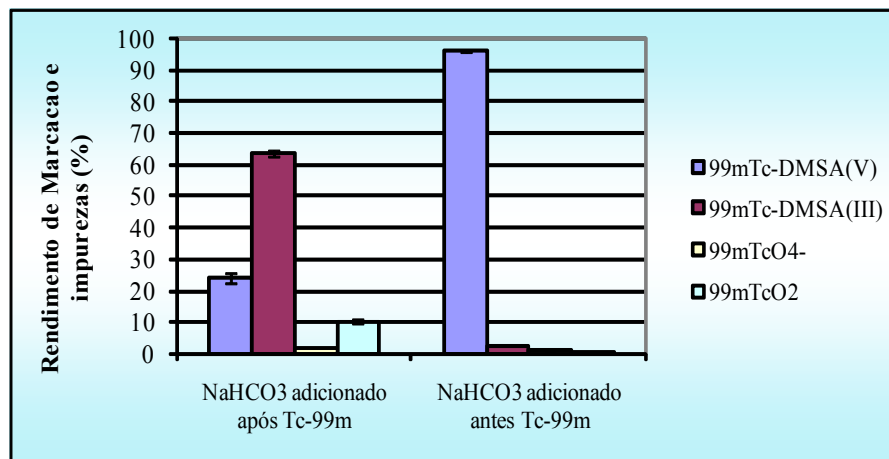
A marcação realizada com o pH 7-7,5 apresentou um rendimento de marcação inferior a 63%, apresentando uma porcentagem alta da impureza  $^{99\text{m}}\text{Tc-DMSA(III)}$ . Já as marcações realizadas com pH 8,5 e pH 9 apresentaram rendimentos de marcação superiores a 96% (FIG.24). Esses resultados comprovam que é necessário um pH alcalino para se obter o  $^{99\text{m}}\text{Tc-DMSA(V)}$ .



**FIGURA 24** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao pH do kit da formulação indireta.

### b) Ordem de adição de $\text{NaHCO}_3$ e $^{99\text{m}}\text{Tc}$

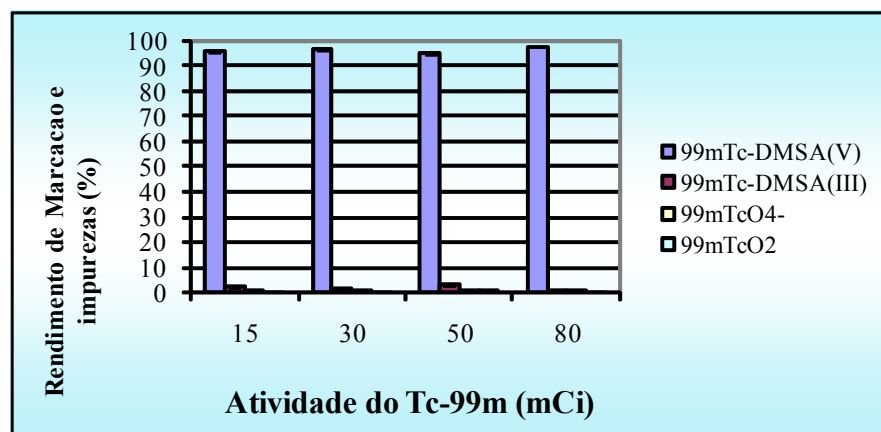
A ordem de adição do  $\text{NaHCO}_3$  e do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ao kit de DMSA(III) é um fator muito importante. O experimento em que foi adicionado primeiro o  $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$  e depois o  $\text{NaHCO}_3$  ao kit apresentou um rendimento de marcação inferior a 25%, mostrando que realmente é necessário o ajuste de pH antes de realizar a marcação com o  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (FIG.25).



**FIGURA 25** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à ordem de adição do NaHCO<sub>3</sub> e do <sup>99m</sup>Tc ao kit de DMSA (III).

### c) Atividade do <sup>99m</sup>Tc

O aumento da atividade do <sup>99m</sup>Tc até 2960 MBq (80 mCi) não teve influência significativa no rendimento da marcação. Todas as marcações apresentaram rendimentos superiores a 95%, conforme mostrado na FIG.26.

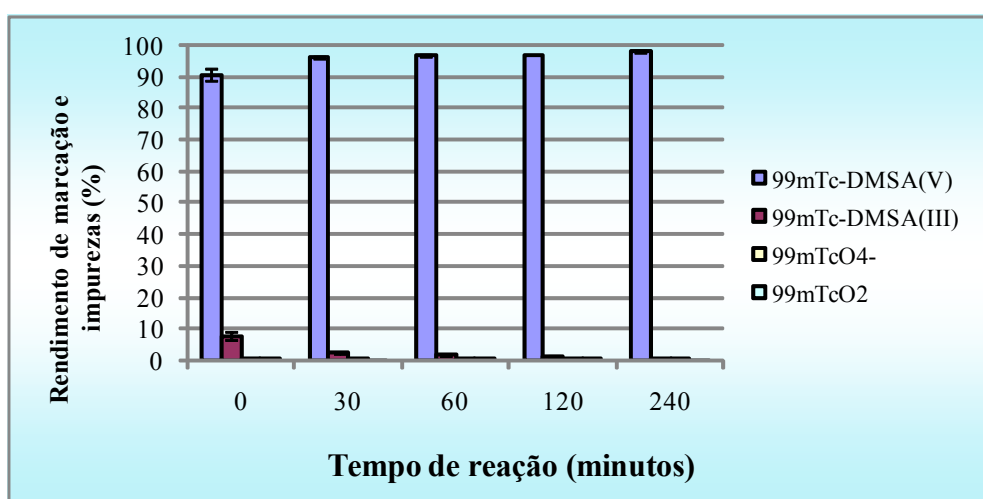


**FIGURA 26** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à atividade do <sup>99m</sup>Tc.

Para aplicação clínica é importante realizar marcações com alta atividade para se realizar o fracionamento de doses.

### d) Tempo de reação e estabilidade da marcação

Todos os rendimentos de marcação foram altos (>95%) quando o tempo de reação foi variado, com exceção da marcação instantânea que foi menor que 90%. O tempo de reação escolhido foi de 30 minutos, por causa do alto rendimento de marcação e menor perda do  $^{99m}\text{Tc}$ , devido ao seu decaimento radioativo. Esses resultados também representam a estabilidade do composto marcado à temperatura ambiente, que teve uma alta porcentagem da pureza radioquímica até 4 horas após a marcação (FIG.27).



**FIGURA 27** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de reação na formulação indireta.

Os resultados mostraram que a marcação do DMSA(V) com  $^{99m}\text{Tc}$  pela formulação indireta apresenta altos resultados de marcação, mesmo com altas atividades.

## 5.2.2. Formulação Direta

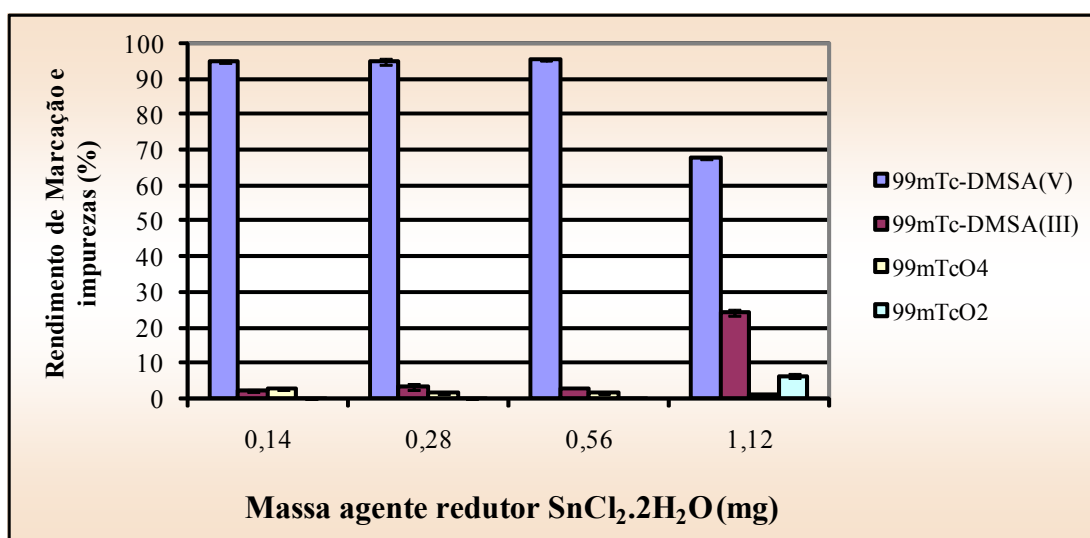
### 5.2.2.1. Kit Líquido

O kit líquido foi preparado usando a formulação padrão de 1,8 mg de DMSA, 1,12 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e pH 9,5.

#### a) Massa do agente redutor

A FIG.28 mostra os resultados do rendimento de marcação do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) quando a massa do agente redutor foi variada. Todos os rendimentos foram maiores que 95% com exceção do kit que continha 1,12 mg of  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , que apresentou um

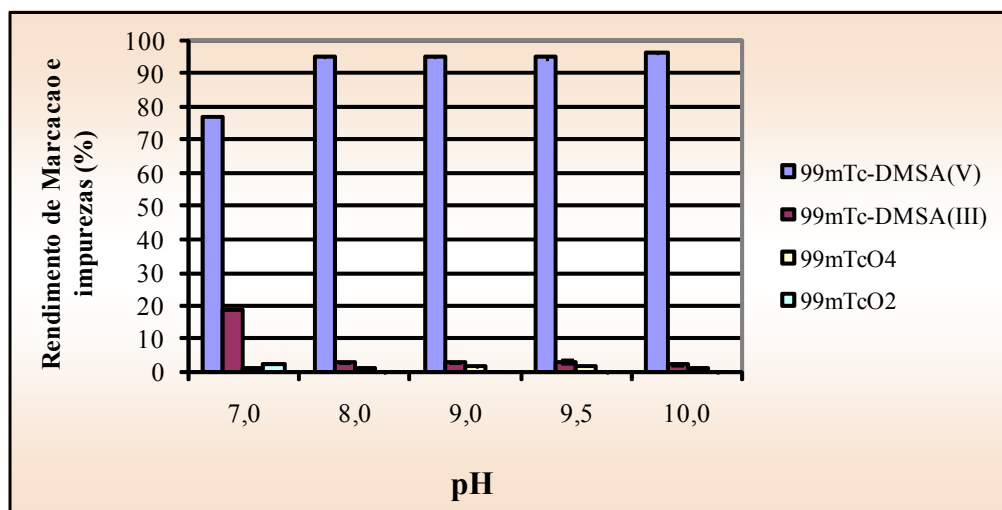
rendimento de marcação inferior a 67%, diferente do rendimento encontrado por Mushtaq et al.<sup>[19]</sup> que conseguiram 95% com essa formulação, mas na forma liofilizada e não na forma líquida. Para os próximos experimentos a massa do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  escolhida foi 0,28 mg. É importante usar sempre a mínima massa necessária do cloreto estanoso, devido a sua potencial toxicidade. O aumento da massa do agente redutor também provoca o aumento do teor de  $^{99\text{m}}\text{TcO}_2$ , a forma reduzida do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ .



**FIGURA 28** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à massa do agente redutor no kit líquido.

### b) O pH

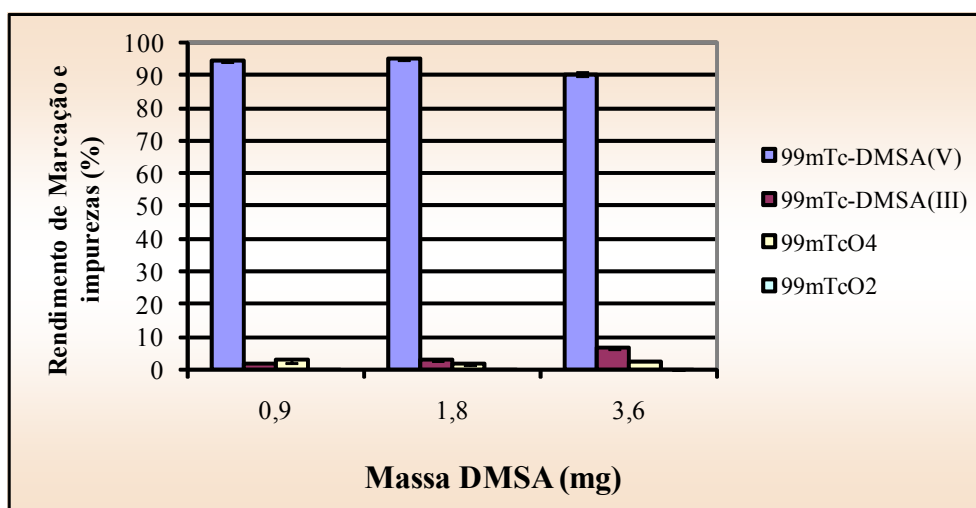
A marcação realizada com o pH 7 apresentou um rendimento de marcação inferior a 77%, apresentando uma porcentagem alta da impureza  $^{99\text{m}}\text{Tc-DMSA(III)}$ . Já a variação do pH entre 8 e 10 não apresentou influência significativa no rendimento de marcação, conforme apresentado na FIG.29, sendo que todos os rendimentos foram maiores que 95%. Nos próximos experimentos foi utilizado o pH 9.



**FIGURA 29** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao pH no kit líquido.

### c) Massa do DMSA

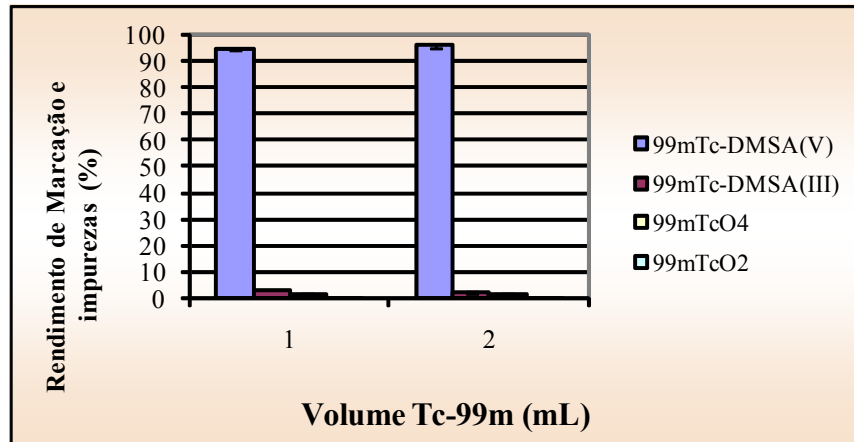
A diminuição da massa do DMSA não afetou o rendimento da marcação, mas o aumento da massa causou uma redução do rendimento para cerca de 90%, tendo como maior impureza o  $^{99m}\text{Tc-DMSA(III)}$  (FIG.30). Nos próximos experimentos foi mantido o valor de 1,8 mg.



**FIGURA 30** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à massa de DMSA no kit líquido.

### d) Volume do $^{99m}\text{TcO}_4^-$

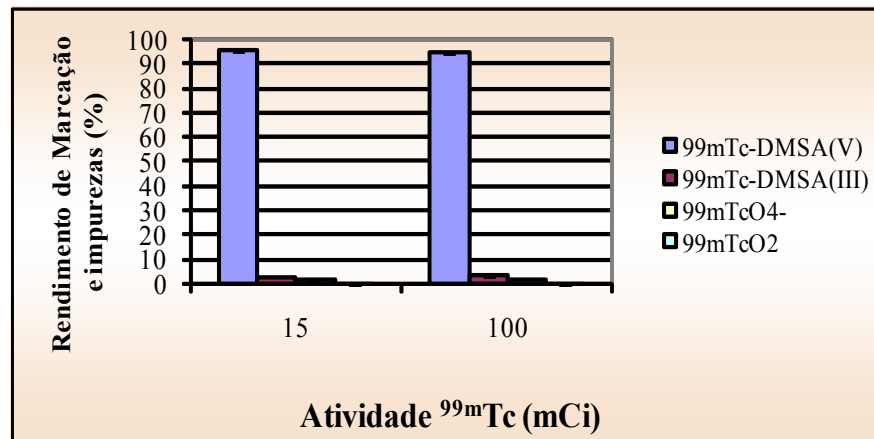
O aumento do volume do  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  para 2 mL não causou alteração no bom resultado do rendimento de marcação, conforme visto na FIG.31.



**FIGURA 31** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao volume de  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  no kit líquido.

**e) Atividade do  $^{99m}\text{Tc}$**

O aumento da atividade do  $^{99m}\text{Tc}$  até 3700 MBq (100 mCi) não alterou o bom rendimento da marcação, conforme mostrado na FIG.32.

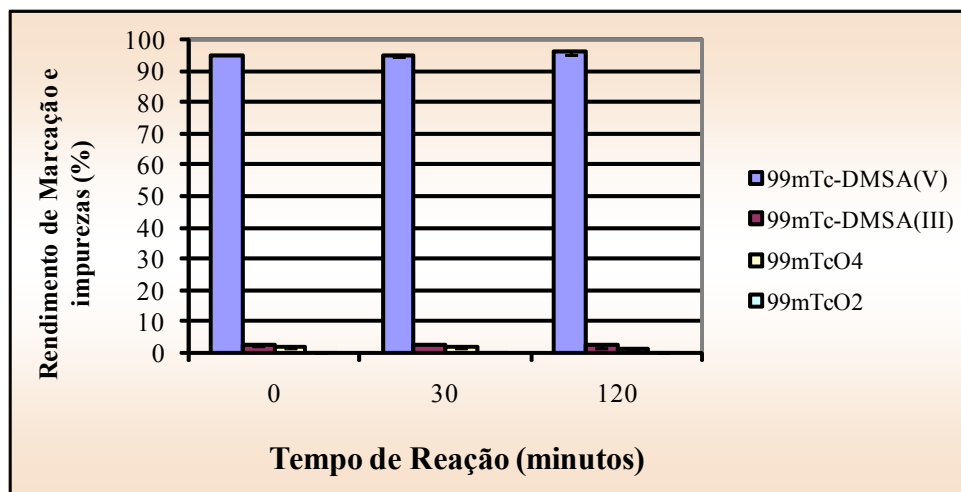


**FIGURA 32** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação a atividade do  $^{99m}\text{Tc}$  no kit líquido.

**f) Tempo de reação e estabilidade da marcação**

Os tempos de reação 0, 30 e 120 minutos foram estudados e todos apresentaram rendimentos de marcação maiores que 95% (FIG.33). Esses valores também representam a

estabilidade da marcação que apresentou uma alta pureza radioquímica, em temperatura ambiente, até 2 horas após a marcação.



**FIGURA 33** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de reação do kit líquido.

É importante ressaltar que a marcação instantânea para o kit líquido apresenta alto rendimento de marcação ao contrário da formulação indireta (FIG.25). Ficou claro que a cinética é mais lenta por causa da dissolução do kit liofilizado, ajuste de pH e as reações posteriores.

As melhores condições para marcação, do kit líquido em volume pequeno, foram: 1,8 mg de DMSA, 0,28 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , pH 9, tempo de reação de 30 minutos a temperatura ambiente.

#### 5.2.2.1.1. Solução mãe do kit líquido

A otimização da marcação foi alcançada após estudar todas as variáveis preparando o kit em um volume de pequeno (1,05 mL). A princípio a formulação escolhida para ser liofilizada após a análise dos resultados do kit em volume pequeno foi a que apresentava 1,8 mg de DMSA, 0,28 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e pH 9. Essa formulação foi então preparada em um volume dez vezes maior para ser fracionada e liofilizada. A marcação do kit liofilizado com essa formulação acabou não apresentando o excelente resultado alcançado com a mesma formulação na forma líquida, como mostram as FIG.28 (~95%) e FIG.38 (~25%). Decidiu-se então escolher a formulação que continha 0,56 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 1,8

mg de DMSA e pH 9 para ser liofilizada. A marcação dessa formulação liofilizada acabou apresentando bons resultados (~92%), semelhantes aos encontrados no kit líquido dessa formulação (~95%).

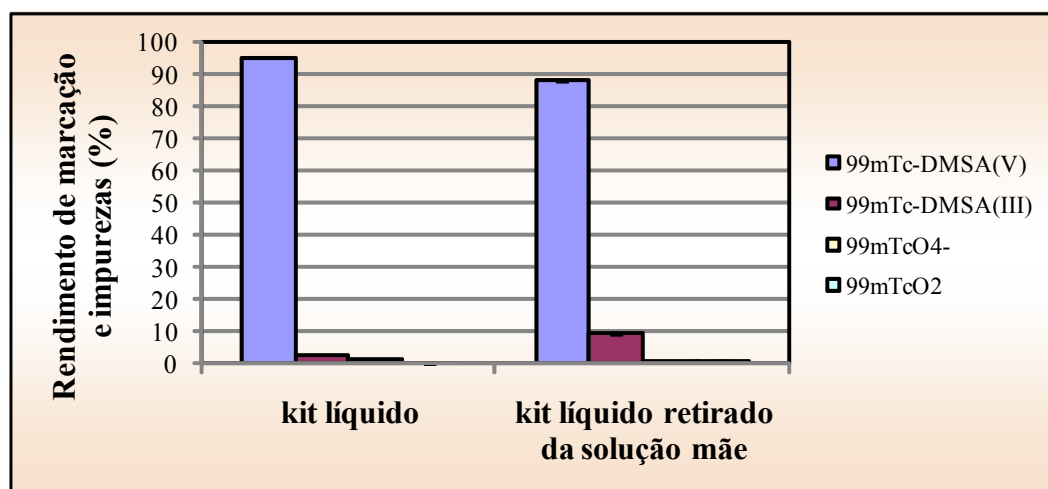
Existem alguns fatores diferentes entre o kit preparado em volume pequeno e o preparado em volume maior para ser fracionado e liofilizado. Fatores esses que poderiam estar interferindo no resultado da marcação, dentre eles é possível citar:

- A perda da massa dos reagentes em cerca de 5% na hora do fracionamento, já que o kit preparado em volume maior tem as mesmas concentrações do preparado em volume pequeno, só que não é fracionado em 1,05 mL e sim em 1 mL. A massa real do DMSA no kit passa a ser 1,71 mg e do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  de 0,53 mg.
- Os cuidados na preparação do kit também são importantes, pois o  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  sofre oxidação facilmente. O kit preparado em volume pequeno é marcado rapidamente logo após a sua preparação, já a solução mãe leva um tempo maior para ser fracionada e levada para liofilização.
- O kit preparado em volume maior é filtrado em Millipore antes de ser fracionado e levado para liofilização. O processo de filtração não é realizado no kit preparado em volume pequeno.

Considerando-se essas diferenças e os resultados que mostram que o kit liofilizado pode não ter o mesmo comportamento apresentado pelo kit líquido, decidiu-se preparar o kit líquido em um volume maior, fracionar em 1 mL igual é feito no preparado para a liofilização e depois realizar a marcação.

A formulação estudada no volume pequeno e volume grande foi a que apresentou bons resultados tanto na forma líquida, quanto liofilizada (1,8 mg de DMSA, 0,56 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e pH 9). A FIG.34 mostra os resultados desse experimento, onde o kit preparado em um volume pequeno apresentou um rendimento de marcação de 95% e o preparado em um volume maior sofreu uma redução no rendimento para 88%.



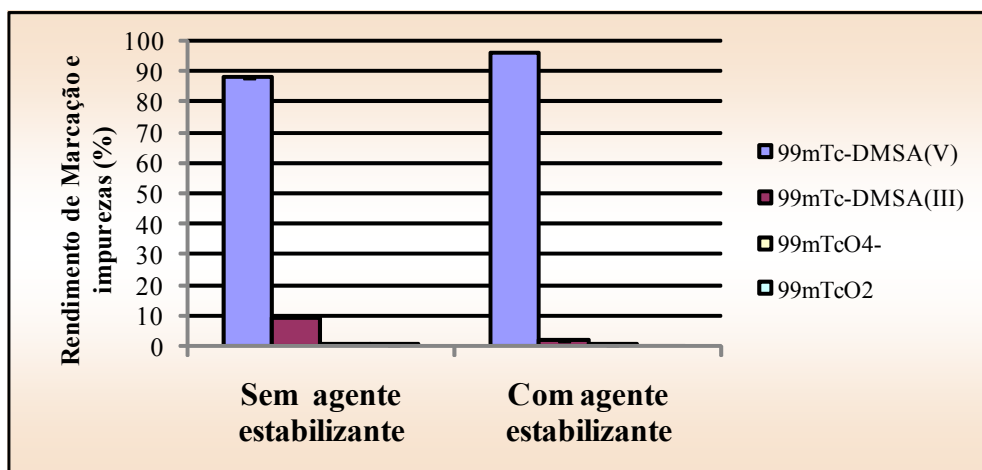


**FIGURA 34** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao kit preparado em 1,05 mL e ao retirado de uma solução mãe de 10,50 mL.

Lembrando que a mesma formulação na forma liofilizada apresentou um rendimento de marcação de 92% e esse resultado mostra que a perda de aproximadamente 5% da massa dos reagentes no momento do fracionamento não apresentou influência relevante para o rendimento de marcação. Decidiu-se avaliar os outros fatores que poderiam estar influenciando no rendimento da marcação, o mais crítico seria a oxidação do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , então foi estudado se a presença de um agente estabilizante no kit e a nitrogenação da solução mãe ajudariam a melhorar o rendimento da marcação.

#### a) Influência do agente estabilizante

A presença do agente estabilizante (ácido ascórbico) no kit gerou um aumento no rendimento de marcação, que passou de 88% para mais de 96% (FIG.35).

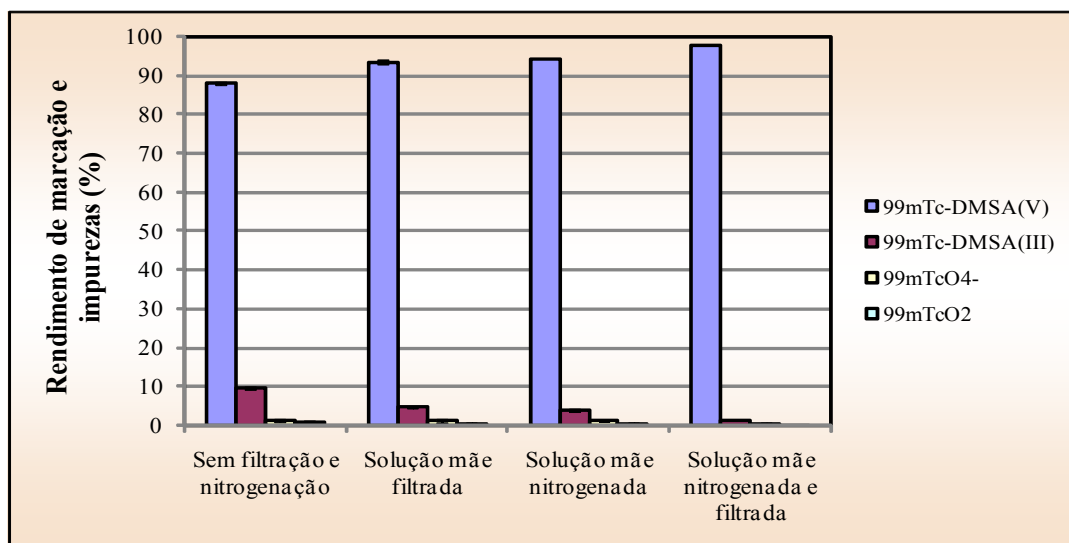


**FIGURA 35** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação a presença do agente estabilizante no kit líquido.

O ácido ascórbico funciona como seqüestrador de ânions ou radicais livres, que são espécies que atuam na decomposição do agente redutor. Por isso o ácido ascórbico é utilizado como agente estabilizante, assegurando a integridade da marcação <sup>[14]</sup>.

#### **b) Filtração (Millipore) e Nitrogenação**

O kit retirado da solução mãe que foi apenas filtrada em Millipore apresentou um rendimento de marcação > 93%. O que foi retirado da solução mãe nitrogenada por 20 minutos, atingiu um rendimento de marcação > 94%. Já o kit que foi retirado da solução mãe nitrogenada (20 min.) e filtrada em Millipore apresentou 98% de rendimento de marcação (FIG.36). Esses resultados mostram que esses tipos de procedimentos para realizar a preparação do kit são importantes para o resultado final, em particular para o preparo de kit liofilizado. Estes experimentos foram realizados sem a presença de agente estabilizante.

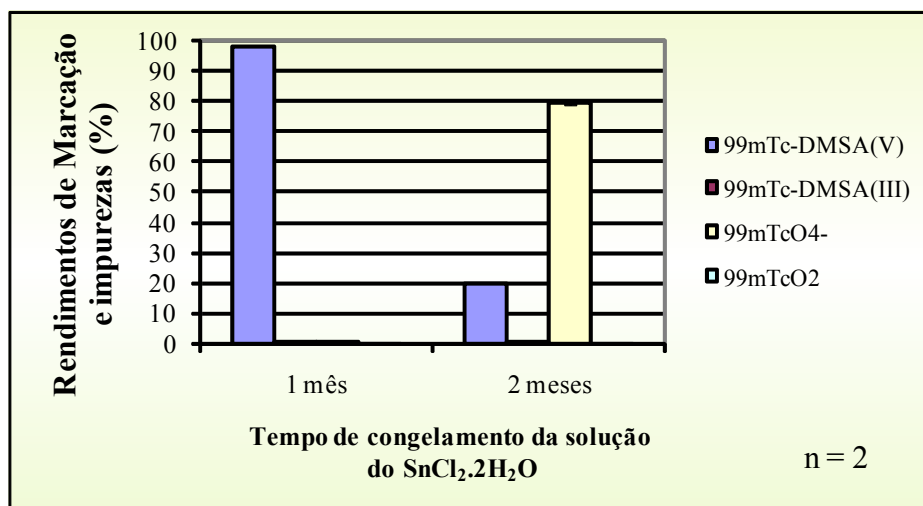


**FIGURA 36** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à filtração e nitrogação da solução mãe no kit líquido.

Um dos fatores importantes no trabalho com o  $\text{SnCl}_2$  como agente redutor é a presença do oxigênio, que pode oxidar o  $\text{Sn}^{2+}$  a  $\text{Sn}^{4+}$ . Os processos de filtração e principalmente de nitrogação diminuem a quantidade do oxigênio nas soluções, sendo prevista a melhora dos rendimentos de marcação.

#### 5.2.2.1.2. Solução mãe do kit líquido preparada com solução de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ congelada

O kit preparado com a solução de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  que permaneceu congelada por 1 mês apresentou um alto rendimento de marcação (> 98%). Já o kit preparado com a solução congelada por 2 meses apresentou um rendimento de marcação muito baixo (20%), conforme mostrado na FIG.37. Esses resultados mostram que a solução apresenta estabilidade por até 1 mês de congelamento.



**FIGURA 37** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de congelamento da solução de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

A idéia do experimento foi facilitar o preparo da solução de cloreto estano, reagente que absorve umidade e tem tempo curto de prateleira depois de aberto. O preparo de uma solução mãe do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  preservada por congelamento facilitaria muito a produção rotineira de kits.

#### 5.2.2.2. Kit liofilizado

Durante a realização deste trabalho, 6 lotes de kits liofilizados foram preparados. A TAB. 10 mostra a formulação de cada lote dos kits liofilizados, em ordem cronológica:

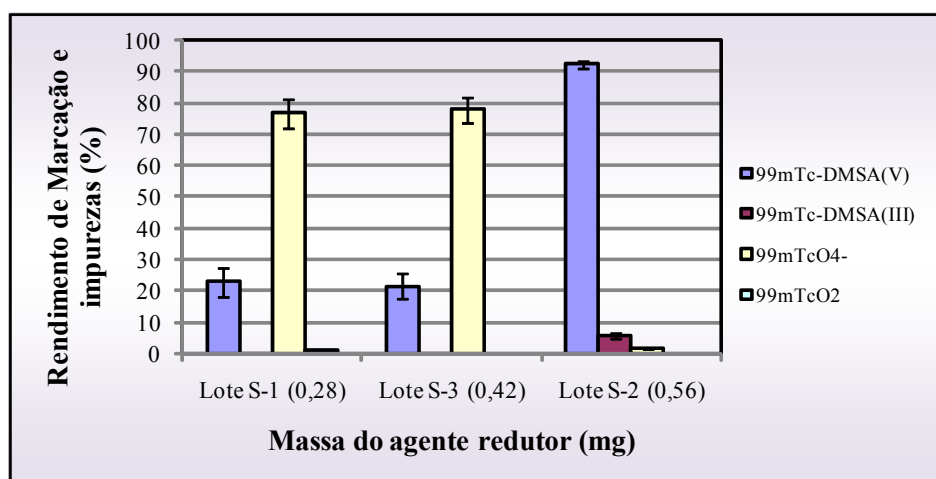
**TABELA 10** - Formulação dos kits liofilizados.

LOTE	DMSA (mg)	$\text{SnCl}_2$ (mg)	ácido ascórbico. (mg)
S-1	1,71	0,265	-
S-2	1,71	0,53	-
S-3	1,71	0,40	-
C-1	1,71	0,53	0,83
C-2	1,71	0,53	0,83
C-3	1,71	0,53	0,83

#### a) Massa do agente redutor

A primeira formulação escolhida para ser liofilizada continha 1,71 mg de DMSA, 0,265 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e pH 9. Embora essa formulação tenha apresentado um bom

rendimento de marcação (95%) no kit líquido, quando liofilizada o rendimento caiu para aproximadamente 25%, como pode ser visto na FIG.38. Devido a esses resultados outra formulação foi liofilizada, contendo o dobro da massa do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,53 mg) e esta apresentou um bom rendimento da marcação (92%), que foi muito semelhante ao encontrado com essa mesma formulação, mas na forma líquida (95%). Buscando minimizar um pouco mais a massa do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e observar o comportamento do kit após liofilizado, outra formulação com 0,40 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  foi liofilizada, mas não apresentou bons resultados também (< 25%). A massa do  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  escolhida para ser utilizada na formulação liofilizada foi a de 0,53 mg.

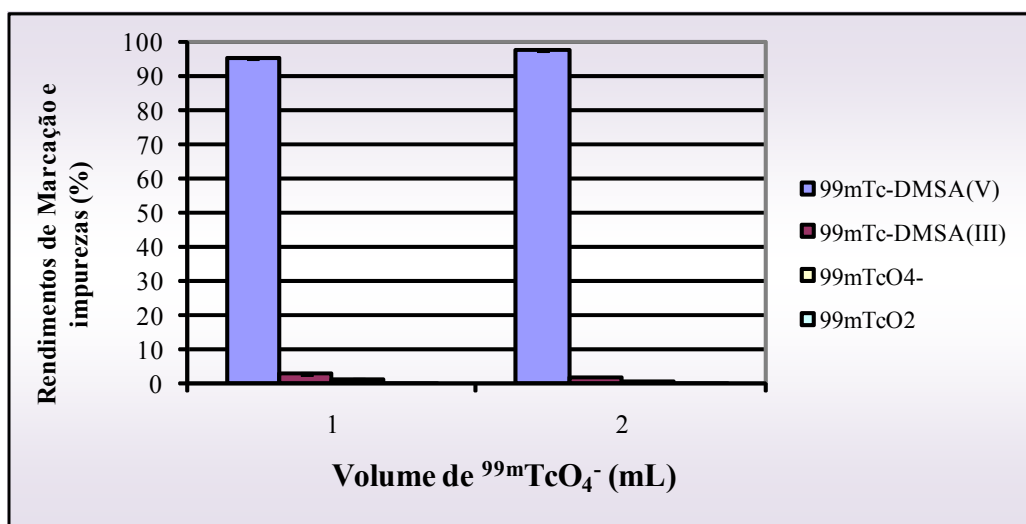


**FIGURA 38** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à massa do agente redutor no kit liofilizado.

Ficou evidente que o comportamento do kit na forma liofilizada pode ser diferente do que o encontrado na forma líquida. Talvez por isso a formulação que continha 1,12 mg  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , na forma líquida, não tenha mostrado bons resultados iguais aos apresentados por Mushtaq et al.<sup>[19]</sup>. Essa mudança de comportamento do kit líquido para o liofilizado poderia estar ocorrendo por uma possível perda de massa do agente redutor durante o processo de liofilização, mas essa hipótese foi descartada com os resultados do teste de polarografia realizado para quantificar a massa do cloreto estano no kit liofilizado. Os resultados desse teste mostraram que não houve uma perda significativa da massa do agente redutor após o processo de liofilização (ver item 5.4). Um fator que não pode ser modificado foi o ciclo de liofilização, mantido constante pela produção rotineira.

### b) Volume do $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (lote C-1)

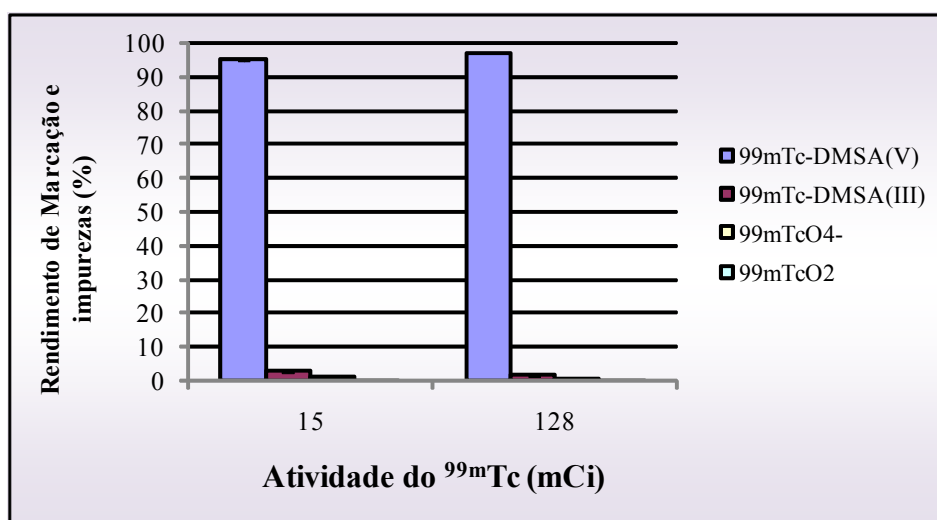
O aumento do volume do  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  para 2 mL não causou alteração no bom resultado do rendimento de marcação, conforme visto na FIG.39.



**FIGURA 39** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao volume de  $^{99m}\text{Tc}$ .

### c) Atividade do $^{99m}\text{Tc}$ (lote C-1)

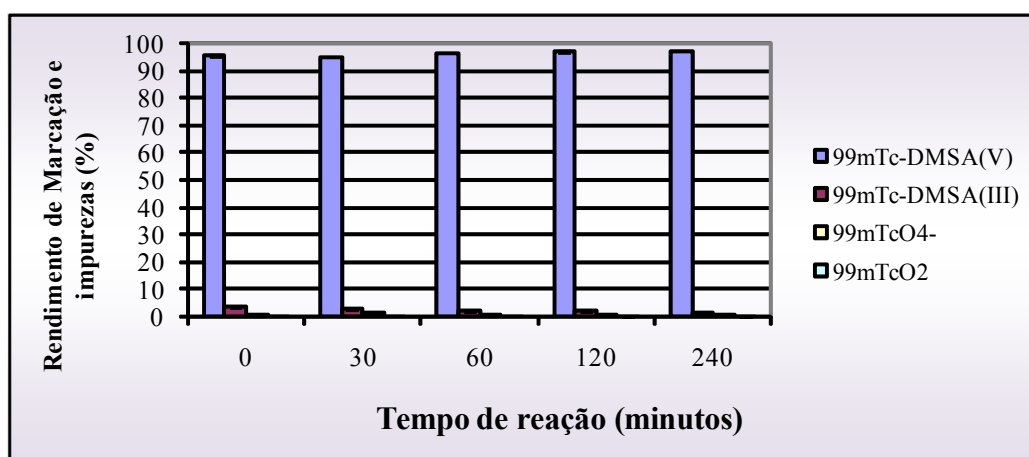
O aumento da atividade do  $^{99m}\text{Tc}$  até 4736 MBq (128 mCi) não alterou o bom rendimento da marcação, conforme mostrado na FIG.40.



**FIGURA 40** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação a atividade do  $^{99m}\text{Tc}$ .

### d) Tempo de reação e estabilidade da marcação (lote C-1)

Os tempos de reação 0, 30, 60, 120 e 240 minutos foram estudados e todos apresentaram rendimentos de marcação maiores que 95% (FIG.41). Esses valores também representam a estabilidade da marcação que apresentou uma alta pureza radioquímica, em temperatura ambiente, até 4 horas após a marcação. É importante achar um tempo de reação mínimo que dê um bom rendimento de marcação e pouca perda do  $^{99m}\text{Tc}$  devido ao seu decaimento radioativo.

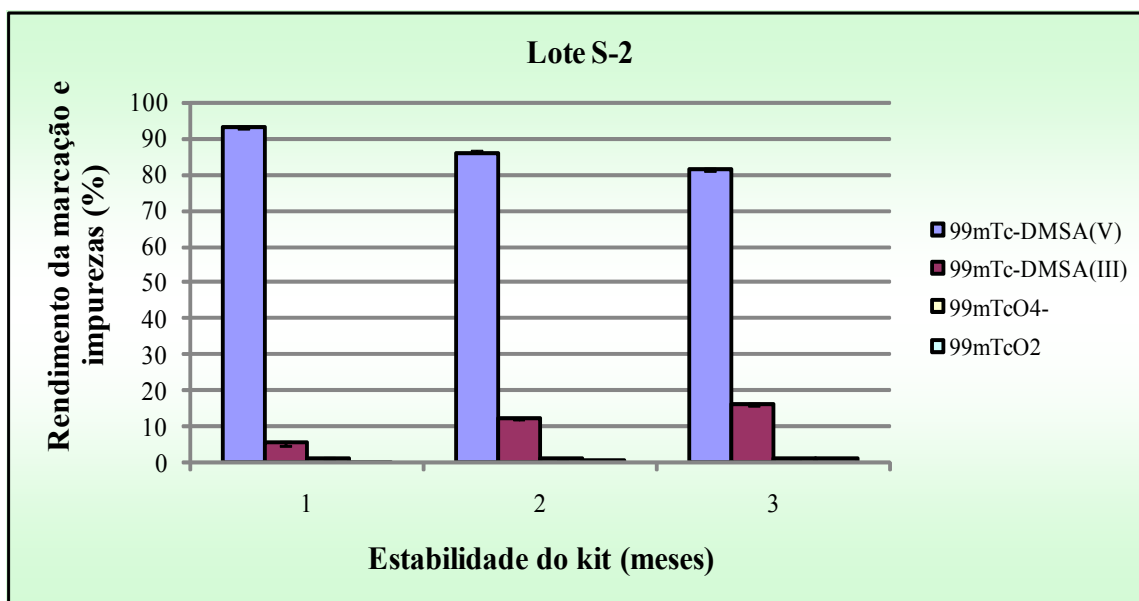


**FIGURA 41** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de reação.

É importante notar que a formulação direta, com kit liofilizado, tem alto rendimento de marcação mesmo para a marcação instantânea. Esta é uma vantagem em relação à formulação indireta, pois 30 minutos a mais na reação resultam em uma perda de 10% da atividade do  $^{99m}\text{Tc}$ .

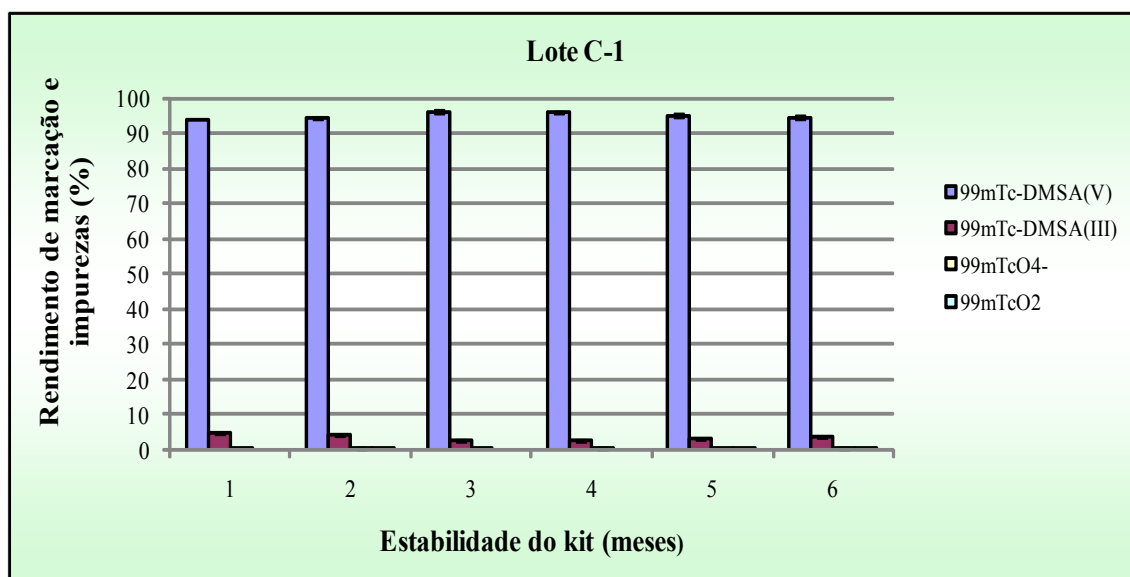
#### e) Estabilidade dos kits (lote S-2, C-1, C-2 e C-3)

O lote S-2, que não continha agente estabilizante, foi estudado por 3 meses e ficou estável apenas no primeiro mês, apresentando um rendimento de marcação de ~ 92%. A partir do segundo mês já apresentou uma redução no rendimento que ficou por volta de 86%, e no terceiro mês o rendimento caiu para 81% (FIG. 42).



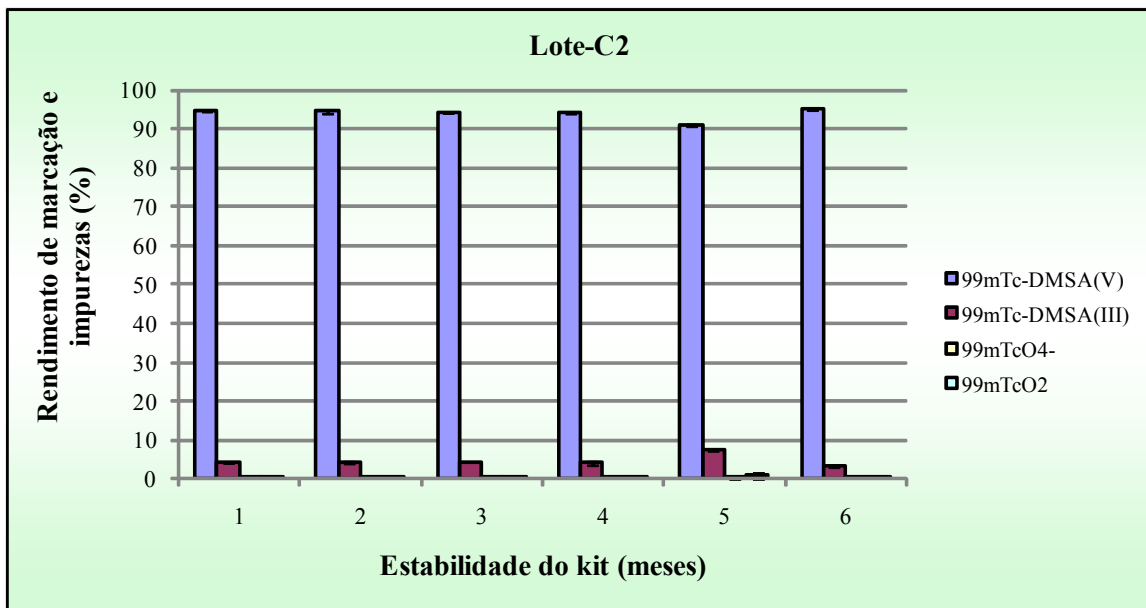
**FIGURA 42** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de estocagem do kit (lote S-2).

Os lotes C-1 e C-2 que continham agente estabilizante em suas composições foram estudados por seis meses e apresentaram bons rendimentos de marcação até o sexto mês, conforme visto nas FIG. 43 e 44.



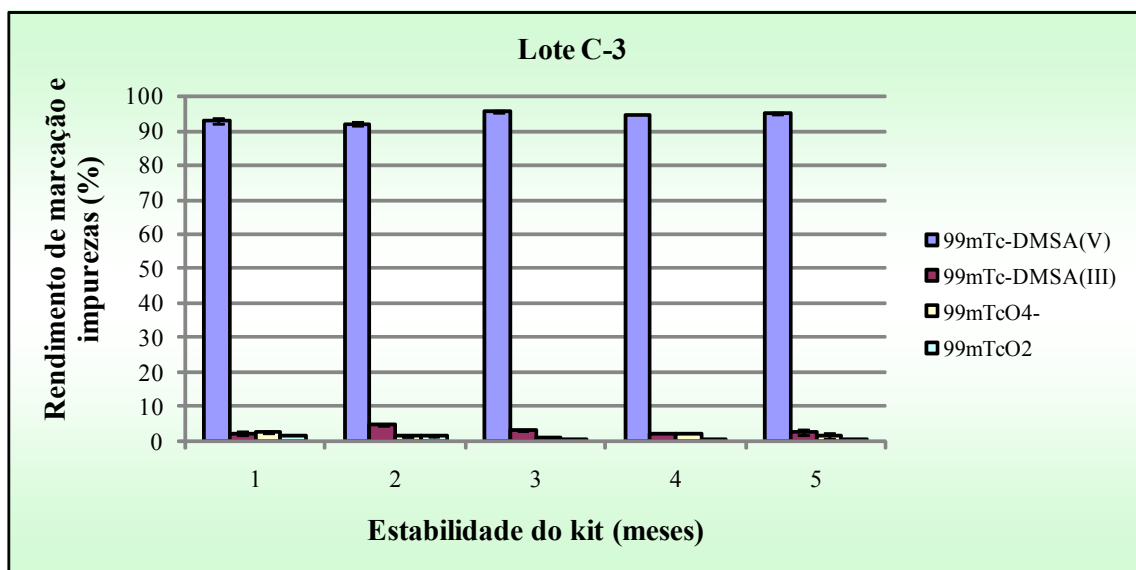
**FIGURA 43** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de estocagem do kit (lote C-1).





**FIGURA 44** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de estocagem do kit (lote C-2).

O lote-C3 foi estudado por cinco meses e até o quinto mês também se mostrou estável apresentando bons resultados no rendimento de marcação. Houve até um aumento no rendimento da marcação de aproximadamente 2% nos últimos meses em relação aos dois primeiros meses, conforme visto na FIG.45.



**FIGURA 45** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de estocagem do kit (lote C-3).

Esses resultados mostram a influência do agente estabilizante (ácido ascórbico) na composição do kit, pois o lote que não contém esse reagente, mostrou uma redução no rendimento da marcação em apenas 3 meses de estocagem de mais de 10%. Já os lotes que continham o estabilizante na formulação apresentaram uma estabilidade de até 6 meses.

Os resultados de marcação do kit liofilizado foram excelentes comparados aos da formulação indireta e direta com o kit líquido, além de apresentarem alta estabilidade. A formulação final foi de 1,71 mg de DMSA, 0,53 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,83 mg de ácido ascórbico e pH 9.

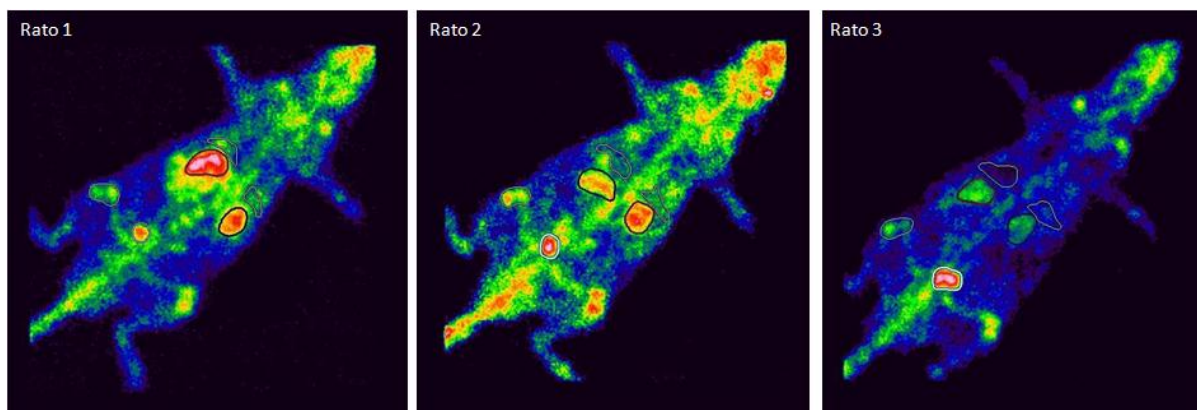
Mushtaq e colaboradores <sup>[19]</sup> conseguiram rendimento de marcação >95% com a formulação liofilizada de DMSA(V) que tinha razão molar de DMSA para  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  de 2:1, e informaram que a solução dessa formulação era amarelada. Neste trabalho, a formulação final apresentou razão molar de DMSA para  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  de 4:1, e a solução era límpida.

Em literatura, os autores que marcaram o DMSA(V) com  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  pela formulação indireta, alcançaram rendimentos superiores a 90% <sup>[15,16,17,18,23,33,34]</sup>. Os que marcaram com a formulação direta (liofilizada) também obtiveram rendimentos de marcação superiores a 90%.

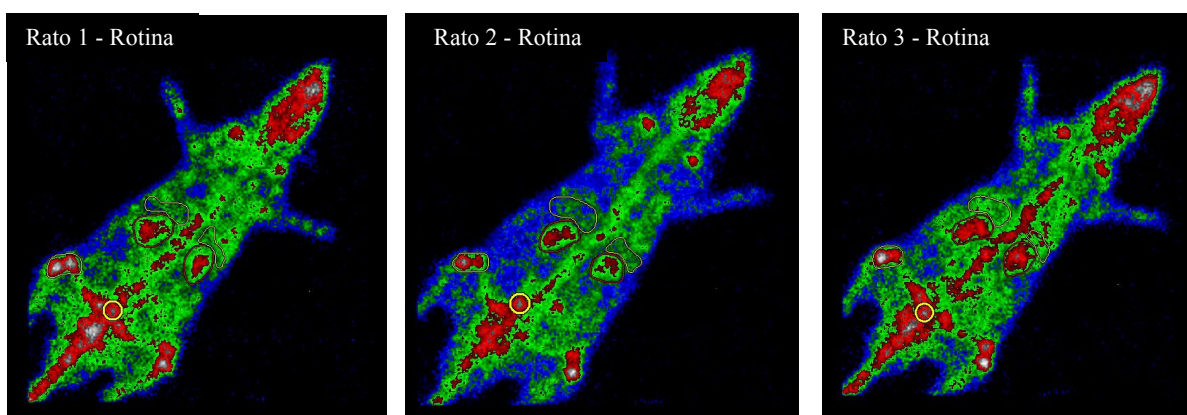
### **5.3. Controle biológico: imagem cintilográfica e biodistribuição do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA(V)**

Para realizar o estudo da imagem cintilográfica e da biodistribuição do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (V) foi utilizado um kit liofilizado, desenvolvido neste trabalho (lote C-3). As imagens (FIG. 46) foram adquiridas uma hora após a administração do radiofármaco.

Através de imagens cedidas pelo Controle de Qualidade do Centro de Radiofarmácia do IPEN (FIG. 47), pode-se observar que a biodistribuição do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA (V) preparado pela formulação liofilizada, é semelhante a biodistribuição da formulação indireta comercializada pelo IPEN.



**FIGURA 46** - Imagens cintilográficas do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) preparado neste trabalho.



**FIGURA 47** - Imagens cintilográficas do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V) preparado a partir do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(III) pela rotina do IPEN.

Logo após a cintilografia os ratos foram sacrificados, os órgãos separados, pesados e a atividade de alguns órgãos de interesse, como rins, fígado e fêmur, foi medida em um calibrador de dose (Capintec). Os resultados encontrados neste trabalho da porcentagem de dose injetada por órgão (% d.i./órgão) estão discriminados na TAB.11, junto com os resultados de um lote da produção rotineira do IPEN e os valores encontrados por Mushtaq e colaboradores. Na tabela também está descrito os limites estabelecidos para este radiofármaco pela IAEA e pelo Controle de Qualidade do Centro de Radiofarmácia do IPEN. Os valores de % d.i. encontrados neste trabalho e os cedidos pelo Controle de Qualidade do Centro de Radiofarmácia do IPEN representam a média da % d.i./órgão dos 3 animais.

Os resultados encontrados neste trabalho foram semelhantes aos da biodistribuição do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V) preparado a partir do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (III), realizada pela rotina do

IPEN e em literatura. Observa-se também que o fármaco preparado neste trabalho e o da rotina atendem os limites de aceitação de % d.i./órgão utilizados pelo Controle de Qualidade do IPEN e os da IAEA, com exceção dos resultados para o fêmur estabelecidos pela IAEA, que inclusive diferem dos limites estabelecidos pelo IPEN.

**TABELA 11** - Resultados de biodistribuição do  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(V).

Órgão	% DOSE INJETADA (d.i.)				
	Limite de aceitação IAEA	Limite de aceitação IPEN	Rotina IPEN	Este trabalho	Mushtaq <sup>[19]</sup>
Rins	< 10	≤ 20,0	3,1 ± 0,4	4,4 ± 0,9	7 ± 2
Fígado	< 2	≤ 3,0	0,88 ± 0,09	1,15 ± 0,09	2,0 ± 0,5
Baço	-	≤ 1,0	0,07 ± 0,01	0,095 ± 0,005	-
Fêmur	> 1,5 (d.i/g)	≤ 1,5	0,86 ± 0,04 <b>0,99 ± 0,04 (d.i./g)</b>	0,69 ± 0,06 <b>0,80 ± 0,06 (d.i./g)</b>	-
Carcaça	-	≤ 70,0	40,3 ± 0,2	41 ± 4	42 ± 8

#### 5.4. Determinação de Sn(II) em kit liofilizado de DMSA(V) para marcação com $^{99m}\text{Tc}$

A análise polarográfica foi realizada em 3 lotes dos kits liofilizados de DMSA(V), S-1, S-2 e S-3, com o objetivo de verificar se após o processo de liofilização ocorria alguma perda da massa do cloreto estano no kit. A TAB.12 mostra os resultados encontrados nesta análise. Pode-se observar através dos resultados que não ocorreu nenhuma perda significativa da massa do agente redutor nos kits após o processo de liofilização.

**TABELA 12** - Resultados da análise polarográfica para determinação de Sn(II) em lotes dos kits liofilizados de DMSA(V) para marcação com  $^{99m}\text{Tc}$ .

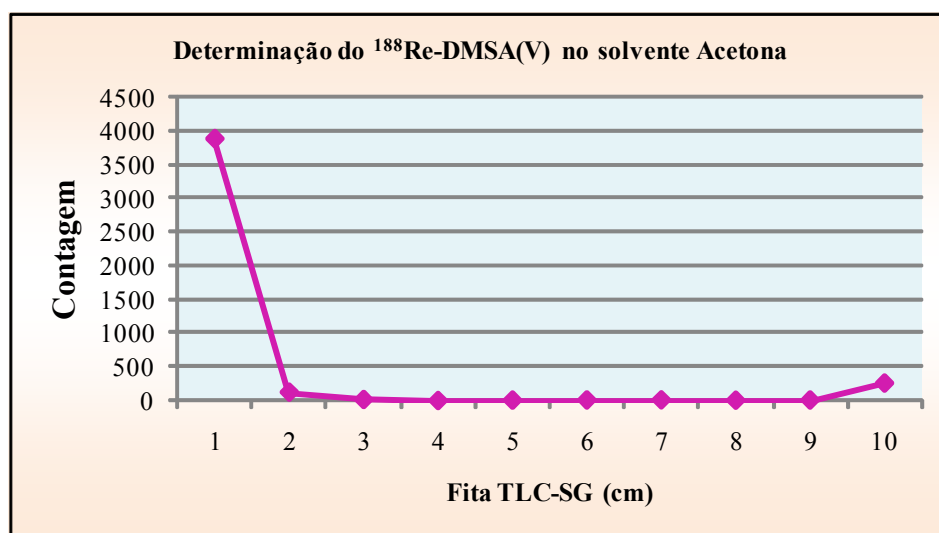
Amostra	m SnCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O (mg) (valor esperado)	m SnCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O (mg) (valor encontrado)
Lote S-1	0,26	0,26
Lote S-2	0,53	0,50
Lote S-3	0,40	0,42

### 5.5. Pureza radioquímica do $^{188}\text{Re-DMSA(V)}$

A pureza radioquímica do  $^{188}\text{Re-DMSA(V)}$  foi determinada pela técnica de cromatografia em camada fina ascendente, utilizando como suporte fita TLC-SG (Al) e como solvente acetona para determinar o  $^{188}\text{ReO}_4^-$  e glicina 5% para determinar a porcentagem de  $^{188}\text{ReO}_2$ . Cada espécie foi avaliada nos dois solventes para a verificação e confirmação dos seus respectivos  $R_f$ . Em todos os experimentos as fitas foram cortadas ao meio para contagem da radiação, mas para realizar a avaliação de cada espécie nas fitas, utilizando os dois sistemas de solventes, foram realizados os cortes das mesmas em 10 segmentos.

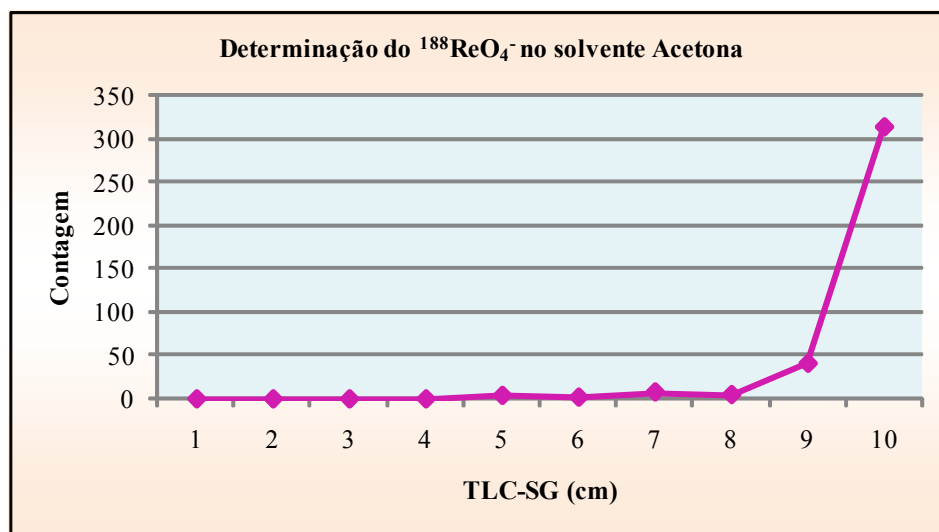
De acordo com Pirmettis et. al. [31] utilizando fita TLC-SG e solvente acetona, o radiofármaco  $^{188}\text{Re-DMSA(V)}$  permanece na origem junto com o  $^{188}\text{ReO}_2$ , e o  $^{188}\text{ReO}_4^-$  migra com a frente do solvente. No solvente glicina 5%, o  $^{188}\text{ReO}_2$  permanece na origem e as outras espécies migram com o solvente.

A FIG. 48 mostra que o radiofármaco realmente permanece na origem quando se utiliza acetona como solvente.



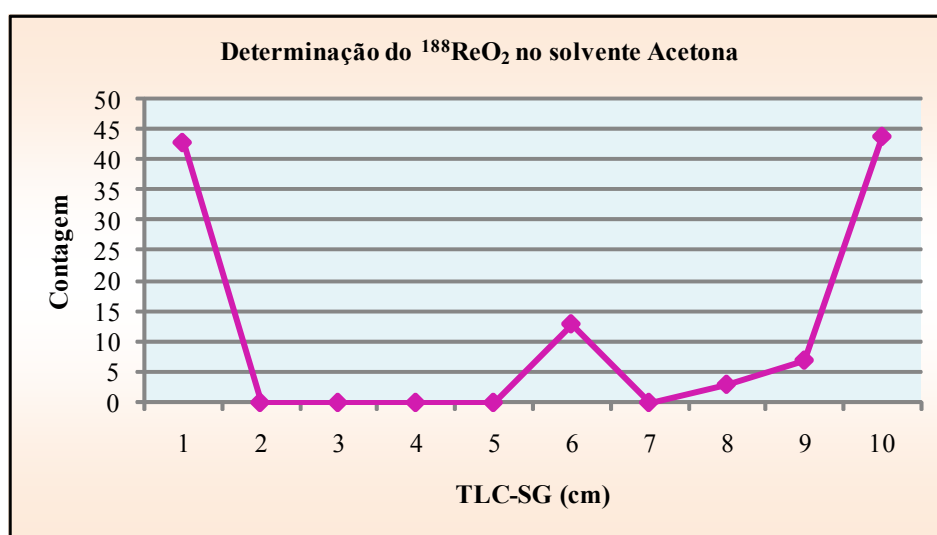
**FIGURA 48** – Determinação do  $^{188}\text{Re-DMSA(V)}$  na fita TLC-SG utilizando acetona como solvente.

Na FIG. 49 pode-se observar que o  $^{188}\text{ReO}_4^-$  realmente migra para frente do solvente.



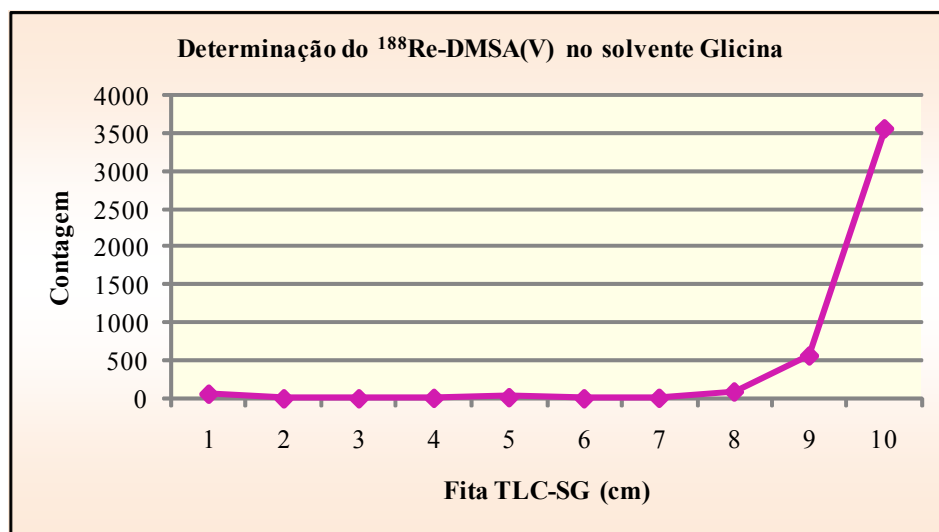
**FIGURA 49** – Determinação do  $^{188}\text{ReO}_4^-$  na fita TLC-SG utilizando acetona como solvente.

Observou-se que o  $^{188}\text{ReO}_2$  permaneceu na origem, conforme mostrado na FIG.50. Observou-se também picos no segmento 6 (provavelmente outra espécie do  $^{188}\text{Re}$ ) e 10 ( $^{188}\text{ReO}_4^-$ ).

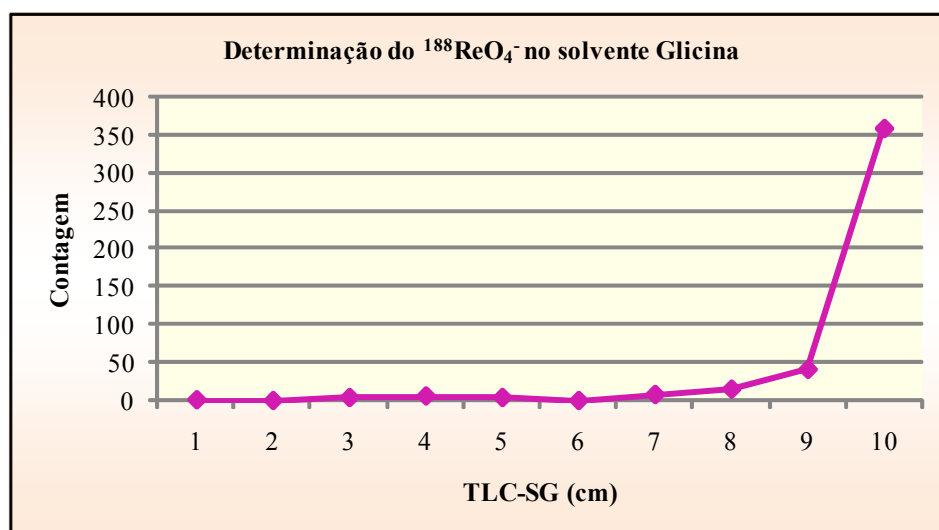


**FIGURA 50** – Determinação do  $^{188}\text{ReO}_2$  na fita TLC-SG utilizando acetona como solvente.

As FIG.51 e 52 mostram o comportamento do  $^{188}\text{Re-DMSA(V)}$  e o  $^{188}\text{ReO}_4^-$ , respectivamente, na fita TLC-SG (Al), utilizando glicina 5%. Pode-se observar que as duas espécies realmente migram com o solvente.



**FIGURA 51** – Determinação do  $^{188}\text{Re-DMSA(V)}$  na fita TLC-SG utilizando glicina como solvente.



**FIGURA 52** – Determinação do  $^{188}\text{ReO}_4^-$  na fita TLC-SG utilizando glicina como solvente.

Pode-se observar na FIG. 53 que na fita TLC-SG com solvente glicina 5% o  $^{188}\text{ReO}_2$  permanece na origem. O pico no seguimento 10 é referente ao  $^{188}\text{ReO}_4^-$ , que realmente migra com o solvente conforme mostrado anteriormente na FIG.50.

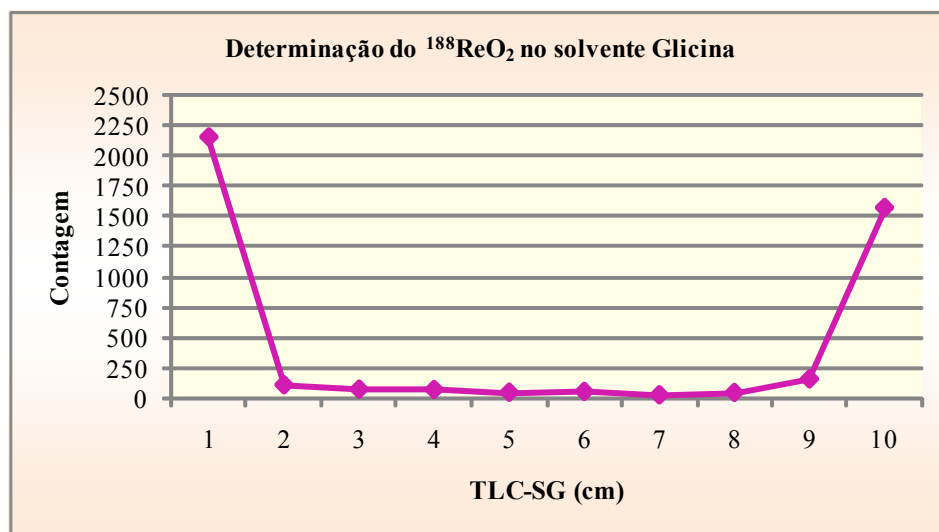


FIGURA 53 – Determinação do  $^{188}\text{ReO}_2$  na fita TLC-SG utilizando glicina como solvente.

A TAB.13 mostra os  $R_f$  das espécies nos dois sistemas de solvente, confirmados neste trabalho.

TABELA 13 -  $R_f$  das espécies formadas na preparação do  $^{188}\text{Re-DMSA(V)}$

Espécies	$R_f$	
	Acetona	Glicina 5%
$^{188}\text{Re-DMSA (V)}$	0	1
$^{188}\text{ReO}_4^-$	1	1
$^{188}\text{ReO}_2$	0	0

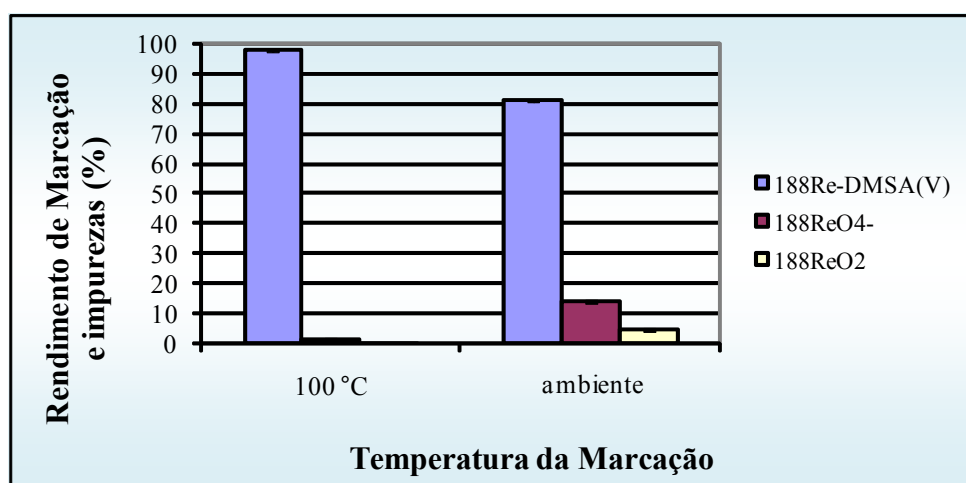
## 5.6. Preparação do $^{188}\text{Re-DMSA (V)}$

### 5.6.1. Método I

A marcação do  $^{188}\text{Re-DMSA (V)}$  preparado a partir do kit comercial de  $^{99\text{m}}\text{Tc-DMSA (III)}$ , utilizando 30 minutos para o tempo de reação com aquecimento a  $100^\circ\text{C}$ , apresentou um rendimento superior a 98%. Quando a marcação foi realizada sem aquecimento, o rendimento caiu para 81% (FIG.54.). Isso mostra que para este método o

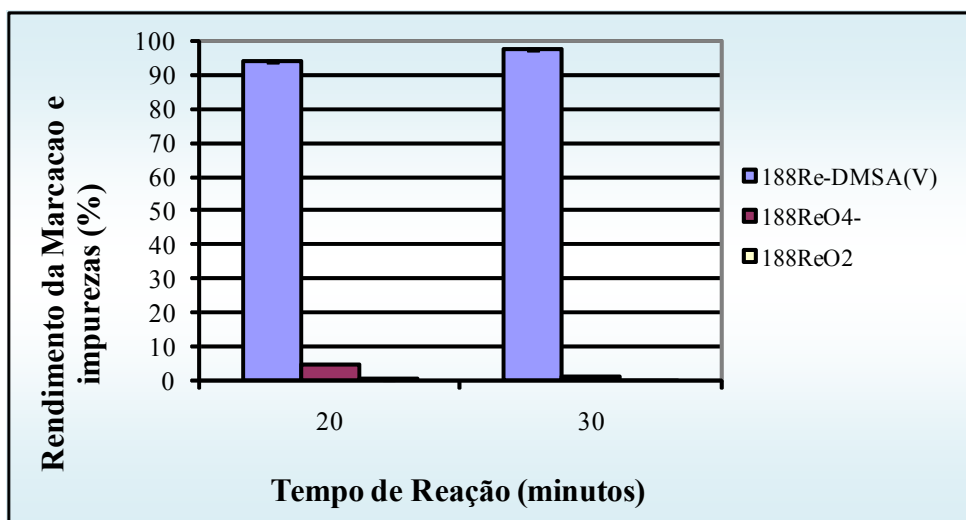


aquecimento a 100°C (banho Maria) é fundamental para atingir um bom rendimento de marcação.



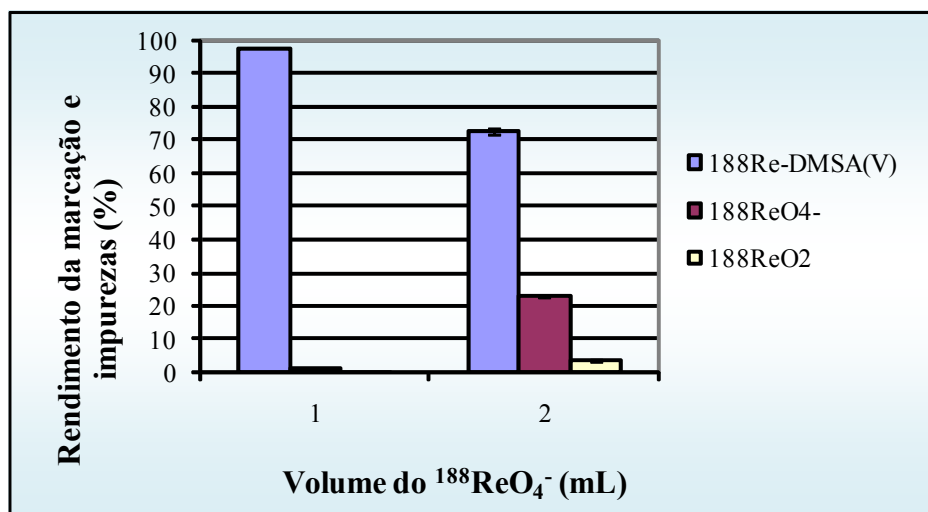
**FIGURA 54** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à temperatura da marcação.

O rendimento da marcação sofreu uma redução de 4% quando o tempo de reação em banho maria foi reduzido de 30 para 20 minutos, conforme mostrado na FIG. 55.



**FIGURA 55** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo de reação.

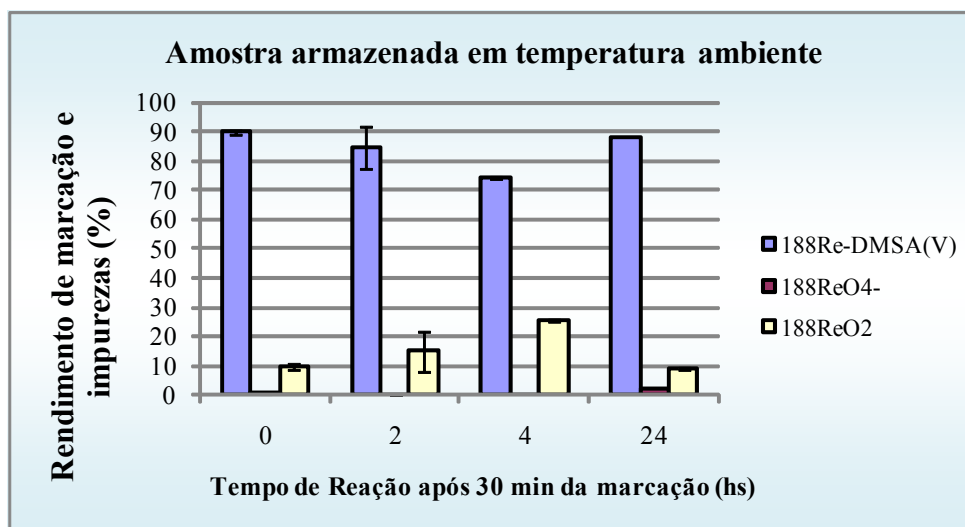
O aumento do volume do  $^{188}\text{ReO}_4^-$  para 2 mL causou uma redução do rendimento da marcação, que passou de 98% para cerca de 72%, conforme visto na FIG.56. Este efeito é comum de se encontrar nas marcações com  $^{188}\text{Re}$  [27].



**FIGURA 56** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao volume do  $^{188}\text{ReO}_4^-$ .

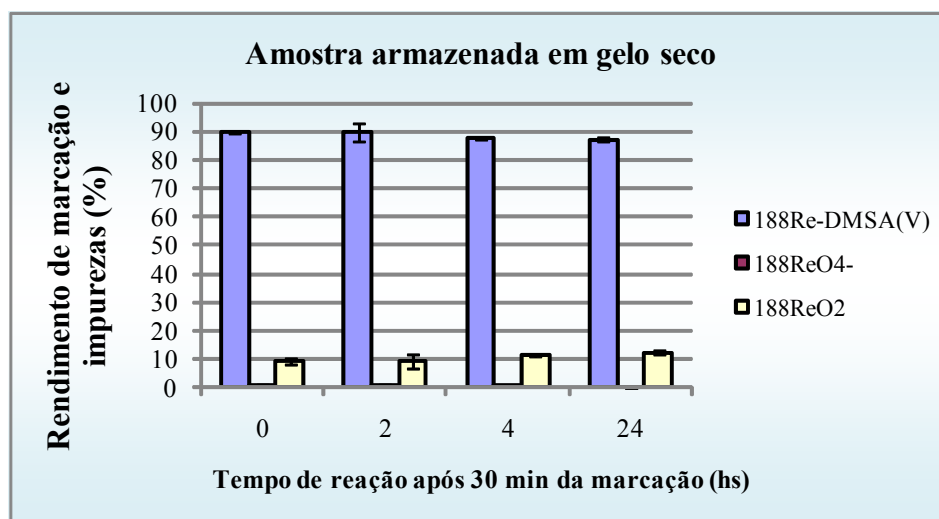
Para estudar a estabilidade da marcação, marcou-se um kit com 1 mL de  $^{188}\text{ReO}_4^-$  (144 MBq/ 3,89 mCi) com tempo de 30 minutos de reação à 100°C. Após os 30 minutos o kit foi retirado do banho maria e foi feito o controle da pureza radioquímica. O rendimento de marcação encontrado foi de aproximadamente 89%. A estabilidade da marcação foi estudada nos tempos de 2, 4 e 24 horas após a marcação. Amostras da solução foram armazenadas em temperatura ambiente (FIG.57) e em gelo seco (FIG.58).

A FIG.57 mostra uma oscilação nos resultados dos rendimentos de marcação da amostra armazenada em temperatura ambiente. O rendimento da marcação caiu nos tempos de 2 e 4 horas e após 24 horas o rendimento aumentou por volta de 14% em relação ao rendimento encontrado no tempo de 4 horas, sugerindo uma recombinação das espécies.



**FIGURA 57** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo após a reação da amostra mantida em temperatura ambiente.

Na FIG.58 observa-se que o rendimento de marcação da amostra mantida em gelo seco apresentou maior estabilidade que a amostra mantida em temperatura ambiente (FIG.55), apresentando uma diminuição de apenas 2% no rendimento da marcação após 24 horas da marcação.



**FIGURA 58** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação ao tempo após a reação da amostra mantida em gelo seco.

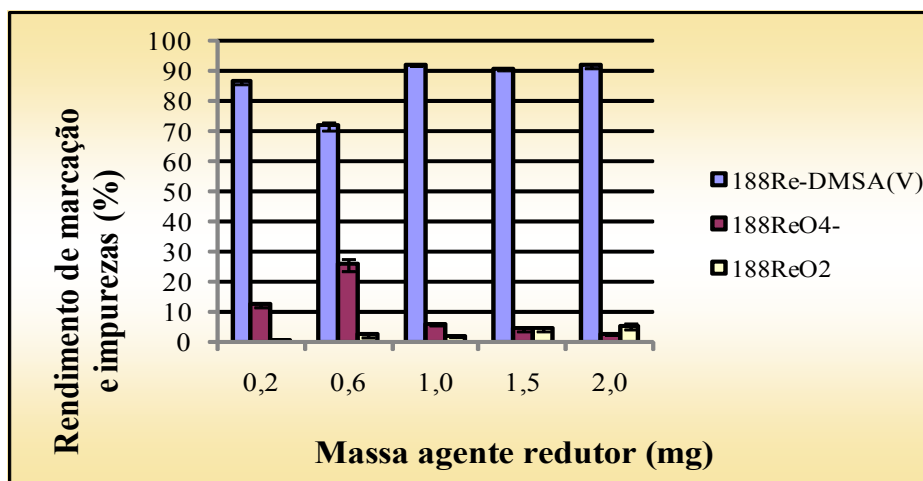
A marcação de DMSA(V) com  $^{188}\text{Re}$  pelo método I deve ser feita em aquecimento a  $100^{\circ}\text{C}$ , durante 30 minutos e é estável por até 24 horas em gelo seco. Não foi possível

estudar o efeito do aumento da atividade do  $^{188}\text{Re}$  por causa do gerador de  $^{188}\text{W}$ - $^{188}\text{Re}$  estar com atividade baixa.

### 5.6.2. Método II

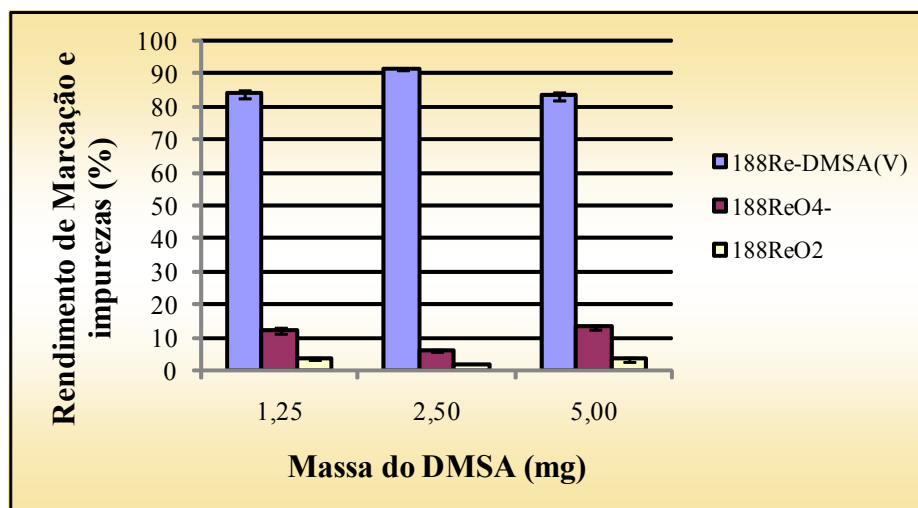
A formulação do presente trabalho foi preparada com 2,5 mg de DMSA, 1 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e 30 mg de oxalato de sódio, baseada na formulação descrita por Bolzati et al.

As marcações dos kits que continham de 1,0 a 2,0 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  apresentaram rendimentos superiores a 90%. O que tinha em sua composição 0,2 mg apresentou um rendimento  $> 85\%$ . O rendimento mais baixo ( $< 73\%$ ) foi o obtido com o kit que continha 0,6 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (FIG.59).



**FIGURA 59** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à massa do agente redutor.

O aumento e a diminuição da massa do DMSA causaram uma queda no rendimento da marcação de quase 10%, conforme visto na FIG.60.



**FIGURA 60** - Variação do rendimento de marcação e das impurezas (%) em relação à massa do DMSA.

As melhores condições para marcação com  $^{188}\text{Re}$  realizadas por esse método foram 2,5 mg de DMSA, 1,0 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 30 mg de oxalato de sódio, pH 5 e 15 minutos de reação à temperatura ambiente. O rendimento de marcação alcançado foi de  $91,7\% \pm 0,3$ .

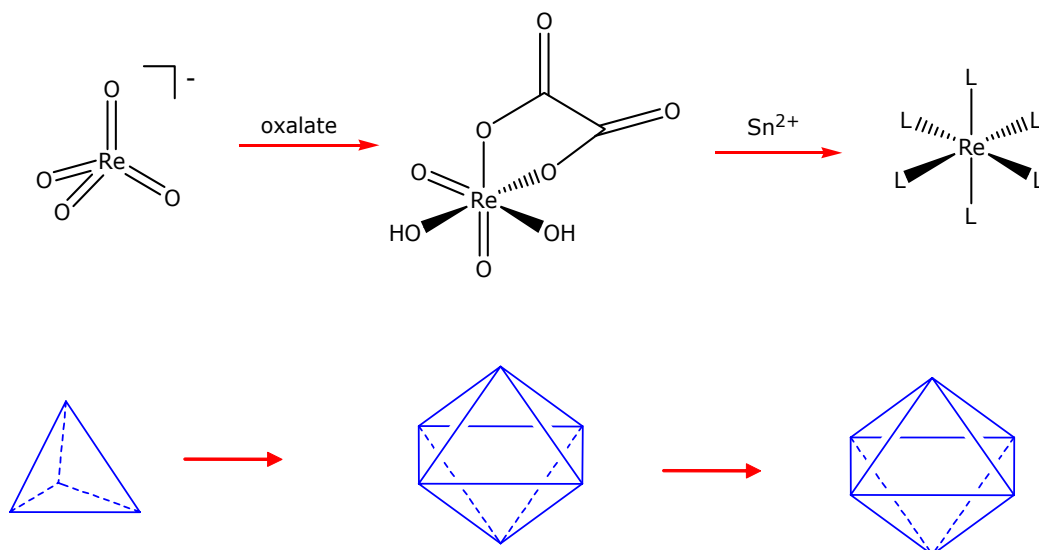
Bolzati et al. <sup>[29]</sup>, conseguiram 95% de rendimento de marcação com a seguinte formulação: 0,2 mg de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 2,5 mg de DMSA, 10 mg de  $\gamma$ -ciclodextrina e 13 mg de oxalato de potássio. O pH da solução foi mantido por volta de 5 e marcado com 0,25 mL  $^{188}\text{ReO}_4^-$  com atividade de 50 a 500 MBq (1,35 a 13,50 mCi), e tempo de reação de apenas 15 minutos sem aquecimento.

Estudos posteriores devem ser feitos para otimizar a marcação pelo método II, como a variação da massa do oxalato de sódio, adição da  $\gamma$ -ciclodextrina, pH e tempo de reação da marcação.

A marcação realizada com o método II apresentou rendimentos similares as do método I, em condições bem mais suaves de marcação. Isto é devido ao uso do ion oxalato, que forma um complexo de geometria (aumento da esfera de coordenação do complexo) mais favorável à redução do Re (VII) a Re (V), o que favorece a reação de marcação.

Estes dados estão de acordo com os obtidos por Pasquali et. al. <sup>[39]</sup>, que primeiro sugeriram o uso de oxalato para a redução de Re, e com este método conseguiram marcar o DMSA (V) com  $^{188}\text{Re}$  usando pequenas quantidades de Sn, temperatura ambiente, pH~5 e

tempo de reação curto. A explicação da mudança da geometria do complexo e redução do Re está mostrada na FIG. 59 [39].



**FIGURA 61** – Ilustração do mecanismo de ação do oxalato na redução do  $^{188}\text{ReO}_4^-$ .

## 6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados dos estudos realizados na preparação do kit de DMSA(V) para marcação com  $^{99m}\text{Tc}$ , pode-se concluir que:

1 - A formulação liofilizada de DMSA(V) para marcação com  $^{99m}\text{Tc}$  desenvolvida neste trabalho apresentou ótimos resultados de rendimento de marcação, que estão dentro dos limites estabelecidos pelo Manual de Controle de Qualidade da IAEA. Os resultados encontrados são comparáveis com os rendimentos da formulação indireta, que já é comercializada pelo IPEN.

2 - Além da praticidade para aplicação médica, pois o kit já é pronto para marcação com  $^{99m}\text{Tc}$ , não necessitando o ajuste de pH, a formulação liofilizada também tem a vantagem de apresentar alto rendimento de marcação no tempo de reação instantâneo, o que acaba minimizando um pouco a perda de atividade do  $^{99m}\text{Tc}$  em relação ao tempo necessário de reação para a marcação da formulação indireta.

2 - O kit liofilizado apresentou alto rendimento de marcação com alta atividade (4736 MBq/ 128 mCi) e volume de até 2 mL de  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ , o que é importante para o fracionamento na aplicação clínica.

3 - Dois lotes do kit liofilizado apresentaram estabilidade de 6 meses de estocagem, e outro lote foi estudado até o 5º mês também se apresentando estável. Estes resultados mostram a qualidade do produto e reprodutibilidade no método de preparação.

4 - O método de controle de qualidade utilizado para a determinação da pureza radioquímica mostrou-se eficaz, apresentando os mesmos resultados do método utilizado pela rotina do Centro de Radiofarmácia do IPEN-CNEN/SP.

Através dos estudos realizados na preparação do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V), pode se concluir que:

1 – A preparação do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) utilizando o kit comercial  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA(III) é viável, pois apresentou excelente rendimento de marcação ( $97,96 \pm 0,25$ ) com 30 minutos de reação a  $100^\circ\text{C}$ , apresentando também estabilidade da marcação de até 24 horas em gelo seco.

2 - A preparação do  $^{188}\text{Re}$ -DMSA(V) realizada com o método II apresentou rendimentos de marcação  $>90\%$ , em condições bem mais suaves de marcação, comparadas com as utilizadas no método I. Isto é devido ao uso do ion oxalato, que forma um complexo de geometria mais favorável à redução do Re (VII) a Re (V), o que favorece a reação de marcação. Estudos posteriores devem ser feitos para otimizar a marcação pelo método II,

como a variação da massa do oxalato de sódio, adição da  $\gamma$ -ciclodextrina, pH e tempo de reação da marcação.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – SCHERING DO BRASIL. *Medicina Nuclear*. Disponível em: [http://www.schering.com.br/website/saude\\_radiologia\\_nuclear.asp](http://www.schering.com.br/website/saude_radiologia_nuclear.asp). Acesso em: 20/05/06.
- 2 - SAHA, G. B. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. 3ed. Springer Verlag, 1992.
- 3 - SAHA, G. B. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. 4ed. Springer Verlag, 1998.
- 4 – OLIVEIRA, R.; SANTOS, D.; FERREIRA, D.; COELHO, P.; VEIGA, F. *Preparações radiofarmacêuticas e suas aplicações*. Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas. Vol. 42, n. 2, abr./jun., 2006.
- 5 - ROCHA, A. F.G. *Medicina Nuclear*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S.A., 1976.
- 6 - THRALL, J. H. *Medicina Nuclear*. Tradução: Maria E. Penas. 2d. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S.A., 2003.
- 7 - CASTRO JR., A. *Guia prático em Medicina Nuclear: a instrumentação*. 1ª ed. São Paulo: Senac São Paulo, 2000.
- 8 - SIEMENS. Documento interno.
- 9 - SITE: <http://www.medical.philips.com/main/products/nuclearmedicine/products/>. Acessado em: 03/12/2008.
- 10 – SITE: <http://nuclearmedicine.stanford.edu/research/>. Acessado em: 03/12/2008.
- 11 – SARKAR, S.K.; VENKATESH, M.; RAMAMOORTHY, N.; *Evaluation of two methods for concentrating perrhenate (<sup>188</sup>Re) eluates obtained from <sup>188</sup>W-<sup>188</sup>Re gerador*. Applied Radiation and Isotopes. Vol. 67, p. 234-239, 2009.
- 12 – ZOLLE, I. *Technetium-99m pharmaceuticals: Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine*. Ed. Springer, 2007.
- 13 - ABRAM, U.; ALBERTO R. *Technetium and Rhenium - Coordination Chemistry and Nuclear Medical Applications*. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 17, nº 8, 1486-1500, 2006.
- 14 - MARQUES, F. L.N.; OKAMOTO, M.R.Y.; BUCHPIGUEL, C.A. *Alguns Aspectos sobre geradores e radiofármacos de tecnécio-99m e seus controles de qualidade*. Radiol. Bras. v.34 n.4. São Paulo jul./ago. 2001.
- 15 – HIRANO, TSUNEO; TOMIYOSHI, KATSUMI; ZHANG, YING JIAN; ISHIDA, TSUNEHIRO; INOUE, TOMIO; ENDO, KEIGO. *Preparation and clinical evaluation of technetium-99m dimercaptosuccinic acid for tumour scintigraphy*. Eur. J. Nucl. Med. 21:82-85, 1994.

- 16 – WESTERA, G.; GADZE, A.; HORST, W. *A Convenient Method for the Preparation of  $^{99m}\text{Tc}(V)$  dimercaptosuccinic Acid ( $^{99m}\text{Tc}(V)$ -DMSA)*. Int. J. Appl. Radiat. Isot. Vol. 36, n° 4, pp. 311-312, 1985.
- 17 – ADAMS, B. K.; FATAAR, A.; BYRNE, M. J.; LEVITT, N.S.; MATLEY, P.J. *Pentavalent Technetium-99m (V) – DMSA uptake in a pheochromocytoma in a patient with sipple's syndrome*. J. Nucl. Med. 31: 106-108, 1990.
- 18 – CHAUHAN, U.P.S.; BABBAR, A.; KASHYAP, R.; PRAKASH, R. *Evaluation of a DMSA Kit for Instant Preparation of  $^{99m}\text{Tc}(V)$ - DMSA for Tumour and Metastasis Scintigraphy*. Nucl. Med. Biol. 8:825-830, 1992.
- 19 – MUSHTAQ, A.; PERVEZ, SH.; HAIDER, I.; MANSUR, M.S.; JEHANGIR, M. *A freeze dried kit for  $^{99m}\text{Tc}(V)$  dimercaptosuccinic acid*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. Vol. 243, N° 3, p.827-829, 2000.
- 20 – AYRANOV, M.; JORDANOVA, A.; MLADENOV, B.; STANTCHEV, V.; KOUYKIN, V. *Formulation and preliminary clinical application of the  $^{99m}\text{Tc}(V)$ -dimercaptosuccinic acid “instant” kit*. Radiochim. Acta, n° 89, pp. 867-871, 2001.
- 21 – BASU, S.; NAIR, N.; AWASARE, S.; TIWARI, B. P.; ASOPA, R.; NAIR, C.  *$^{99m}\text{Tc}(V)$ DMSA scintigraphy in skeletal metastases and superscans arising from various malignancies: diagnosis, treatment monitoring and therapeutic implications*. The British Journal of Radiology, n° 77, pp. 347-361, 2004.
- 22 – KOUTROUBAKIS, I. E.; KOUKOURAKI, S.I.; DIMOULIOUS, P. D.; VELIDAKI, A.A.; KARKAVITSAS, N. S.; Kouroumalis, E. A. *Active Inflammatory Bowel Disease: Evaluation with  $^{99m}\text{Tc}(V)$ DMSA Scintigraphy*. Radiology, 229: 70-74, 2003.
- 23 – HORIUCHI, KAZUKO; YOMODA, ISAMU; OHTA, HITOYA; ENDO, KEIGO; YOKOYAMA, AKIRA. *Search for polynuclear pentavalent technetium complex of dimercaptosuccinic acid [ $\text{Tc}(V)$ - DMSA] tumour localization mechanism*. Eur. J. Nucl. Med. 18:796-800, 1991.
- 24 - DABIRI, S. *[ $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (V)] in Detection of Metastases of Medullary Thyroid Carcinoma*. Iran J. Nucl. Med. Vol. 14, n°26, PP. 15-24, 2006.
- 25 - O.M.;VIEIRA, J.G.H.; MACIEL, R.M.B. *Diagnóstico Laboratorial do Carcinoma Medular de Tiróide: Calcitonina Basal e Testes de Estímulo*. Arq. Bras. Endocrinol. Metab. Vol. 47, n° 5, pp. 529-533. Outubro, 2003.
- 26 - MAGALHÃES, P.K.R.; CASTRO, M.; ELIAS, L. L.K.; MACIEL, L. M.Z. *Carcinoma Medular de Tireóide: da Definição às Bases Moleculares*. Arq. Bras. Endocrinol. Metab. Vol. 47, n° 5, pp. 515-529. Outubro, 2003.
- 27 - MARCZEWSKI, B. *Estudos de marcação do etidronato com  $^{188}\text{Re}$  proveniente de diferentes geradores de  $^{188}\text{W}$  /  $^{188}\text{Re}$* . 2006. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

- 28 – KOTHARI, K.; PILLAI, M.R.A.; UNNI, P.R.; SHIMPI, H.H.; NORONHA, O.P.D.; SAMUEL, A.M. *Preparation of [<sup>186</sup>Re]Re-DMSA and its bio-distribution studies*. Applied Radiation and Isotopes. Vol. 51, p. 43-49, 1999.
- 29 – BOLZATI, C.; BOSCHI, A.; UCCELLI, L.; DUATTI, A.; FRANCESCHINI, R.; PIFFANELLI, A. *An Alternative Approach to the Preparation of <sup>188</sup>Re Radiopharmaceuticals from Generator-Procured [<sup>188</sup>ReO<sub>4</sub>]<sup>-</sup>: Efficient Synthesis of <sup>188</sup>Re(V)-meso-2,3-Dimercaptosuccinic Acid*. Nuclear Medicine and Biology, vol. 27, pp. 309-314, 2000.
- 30 - SALINAS, L. G.; FLORES, G. F.; MURPHY, C. A.; LÓPEZ, M. P.; GUTIÉRREZ, S. H.; NIETO, J. A. *Uptake of the <sup>188</sup>Re(V)-DMSA complex by cervical carcinoma cells in nude mice: pharmacokinetics and dosimetry*. Applied Radiation and Isotopes, n° 54, pp. 413-418, 2001.
- 31 – PIRMETTIS, I.; LIMOURIS, G.S.; BOUZIOTIS, P.; PAPADOPOULOS, M.; KNAPP JR., F.F.; CHIOTELLIS, E.; *Pentavalent rhenium-188 dimercaptosuccinic acid: a new kit formulation and its initial evaluation in mice*. Radiochim. Acta 89, 115-118, 2001.
- 32 – SITE: <http://www.ipen.br/sitio>. Acessado em: 05/10/2008.
- 33 – WASHBURN, L. C.; BINIAKIEWICZ, D. S.; MAXON III, H. R. *Reliable Preparation of <sup>99m</sup>Tc(V)DMSA by a Simple Modified Method Using a Commercial Kit for <sup>99m</sup>Tc(III)DMSA*. Nucl. Med. Biol. Vol. 22, n° 5, PP. 689-691, 1995.
- 34 – BERNARDES, D.M.L.; CASTANHEIRA, C.E.; MURAMOTO, E.; FUKUMORI, N.T.O.; MATSUDA, M.M.N.; BARBOSA, M.F.; MENGATTI, J. *<sup>99m</sup>Tc-DMSA(V): Preparation and Quality Control*. Radiologia Brasileira, vl 41, outubro 2008.
- 35 – COMISIÓN CHILENA DE ENERGIA NUCLEAR. *Acido dimercaptosuccínico V*. Disponível em: <http://www.cchen.cl/index.php>. Acesso em: 24/01/07.
- 36 – SINGH, J.; REGHEBI, K.; LAZARUS, C.R.; CLARKE, S.E.M.; CALLAHAN, A.P.; KNAPP JR, F.F.; BLOWER, P.J. *Studies on the preparation na isomeric composition of <sup>186</sup>Re and <sup>188</sup>Re- pentavalent rhenium dimercaptosuccinic acid complex*. Nuclear Medicine Communications, 14, 197-203, 1993.
- 37 - Manual de Protocolos de Calidad de Radiofármacos. ARCAL XV Produccion y control de calidad de radiofarmacos, IAEA, 1995.
- 38 – RELATÓRIO TÉCNICO N° 466 DA IAEA. *Tecnetium-99m radiopharmaceuticals: manufacture of kits*. Viena 2008.
- 39 - PASQUALI, M.; BOSCHI, A.; UCCELLI, L.; DUATTI, A. Laboratory of Nuclear Medicine, Department of Radiological Sciences, University of Ferrara, 44100 Ferrara, Italy. Comunicação pessoal. CRC – IAEA.