

BR8409418

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR

CNEN/SP

PREPARAÇÃO DE ^{67}Ga , LIVRE DE CARREGADOR, POR IRRADIAÇÃO DE
ZINCO NATURAL COM PRÓTONS

Lizete Fernandes, Constância P. G. da Silva e Marycel F. de Barbosa

PUBLICAÇÃO IPEN 54
IPEN - Pub - 54

FEVEREIRO/1983

**PREPARAÇÃO DE ^{67}Ga , LIVRE DE CARREGADOR, POR IRRADIAÇÃO DE
ZINCO NATURAL COM PRÓTONS**

Lizete Fernandes, Constância P. G. da Silva e Marycel F. de Barbosa

DEPARTAMENTO DE PROCESSAMENTO
TPI

CNEN/SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
SÃO PAULO - BRASIL

Série PUBLICAÇÃO IPEN

INIS Categories and Descriptors

B13

C31

CARRIER FREE ISOTOPES

GALLIUM 67

ION EXCHANGE

IRRADIATION

PROTONS

SPECTROMETRY

ZINC

Recebida em Julho de 1982.

Aprovada para publicação em Outubro de 1982.

Nota: A redacção, ortografia, conceitos e revisão final são de responsabilidade dos Autores.

PREPARAÇÃO DE ^{67}Ga , LIVRE DE CARREGADOR, POR IRRADIAÇÃO DE ZINCO NATURAL COM PRÓTONS*

Lizete Fernandes, Constância P. G. da Silva e Marycel F. de Barbosa

RESUMO

Descreve-se um método de preparação de ^{67}Ga livre de carregador.

Irradiaram-se placas de zinco natural com prótons, no ciclotron CV-28 do Instituto de Engenharia Nuclear – Rio de Janeiro. Após um período de decaimento de quatro dias, dissolveram-se as placas em ácido clorídrico concentrado e percolou-se a solução por uma coluna de vidro contendo resina catiônica. O ^{67}Ga retido, foi eluído com solução de ácido clorídrico 3,5 N.

A solução eluída foi levada à secura, retornada em solução de citrato de sódio 3,8% e esterilizada. Efetuaram-se ensaios para verificação da esterilidade da solução, de acordo com as exigências da Farmacopéia dos Estados Unidos.

A pureza química da solução de citrato de gálio-67 foi determinada pelas técnicas de "spot test" e de espectrofotometria de absorção atômica. A pureza radioativa foi verificada por espectrometria gama.

As amostras de citrato de gálio-67 foram injetadas endovenosamente em ratos de raça Wistar com abscessos experimentais, e em paciente com neuroblastoma da supra-renal.

Os resultados obtidos mostram alto acúmulo de ^{67}Ga nos tumores de tecido mole.

I – INTRODUÇÃO

Os estudos do comportamento biológico de radioisótopos de gálio datam de 1949⁽⁴⁾, mas o uso clínico do ^{67}Ga na detecção de tumor fundamenta-se na observação inicial de Edwards e Hayes⁽⁵⁾ segundo a qual o citrato de gálio-67 possui afinidade extraordinária por tumores em tecidos moles. Esta afinidade do ^{67}Ga tem sido provada em uma variedade de tumores, em humanos e em animais, por vários autores^(1,3,6,7). Estas descobertas fizeram com que o ^{67}Ga se tornasse, na medicina nuclear, um radioelemento importante para estudos "in vivo".

O ^{67}Ga cuja meia-vida é de 78 horas, decaie por captura eletrônica com a emissão de quatro principais raios gama: 93, 184, 300 e 393 KeV com intensidades relativas de 40, 24, 22 e 7 por cento, respectivamente⁽⁹⁾. Esse radionuclídeo é produzido por irradiação de zinco natural com prótons pelas reações nucleares $^{67}\text{Zn}(p,n)^{67}\text{Ga}$ e $^{68}\text{Zn}(p,2n)^{67}\text{Ga}$. Concomitantemente, forma-se ^{66}Ga ($t_{1/2} = 9,5\text{h}$) de acordo com as reações: $^{66}\text{Zn}(p,n)^{66}\text{Ga}$ e $^{67}\text{Zn}(p,2n)^{66}\text{Ga}$; este decaie, segundo Hupf e Beaver⁽⁹⁾, 57% pela emissão de pósitrons e 43% por captura eletrônica, dando origem a raios gama de alta energia: 833 KeV (5%), 1039 KeV (37%), 2183 KeV (5%), 2748 KeV (25%) e 4300 KeV (5%), além dos fótons de aniquilação de 511 KeV.

Zinco-65 ($t_{1/2} = 245\text{d}$) é também produzido nos alvos de zinco natural pelas reações $^{66}\text{Zn}(p,2n)^{65}\text{Ga}$ 16 min. ^{65}Zn .

(*) Trabalho apresentado no VIII Congresso da Associação Latino-Americana de Sociedades de Biologia e Medicina Nuclear – Rio de Janeiro – de 20 a 25 de Setembro de 1981.

Neste trabalho, apresenta-se um método de preparação de citrato de gálio-67, sendo o ^{67}Ga , obtido por irradiação de zinco natural, adotando-se um procedimento de troca catiônica e baseado nos experimentos de Neirinckx e Van der Merwe⁽¹⁰⁾.

II – PARTE EXPERIMENTAL

II.1 – Irradiação de Amostras:

Placas de zinco de 300 e 800 mg com 99,9% de pureza foram irradiadas no ciclotron CV-28 do Instituto de Engenharia Nuclear – Rio de Janeiro, com prótons de 24 MeV, corrente de 15 μA , por períodos de 60 e 180 minutos.

II.2 – Tratamento Químico das Amostras Irradiadas:

Após a irradiação, aguardou-se um período de resfriamento de quatro dias para o início do processamento químico. Nesse caso o ^{66}Ga apresenta uma atividade inferior de 1% da atividade do ^{67}Ga ⁽⁹⁾.

A placa irradiada foi dissolvida, a frio, em 10 ml de ácido clorídrico concentrado. Adicionou-se 1 ml de solução de iodeto de potássio 1% para redução de Fe^{III} a Fe^{II} . Este elemento, presente no alvo e nos reagentes químicos usados, é indesejável quando das aplicações médicas do ^{67}Ga , visto competir com ^{67}Ga em seu acúmulo no tumor⁽¹¹⁾. Percolou-se a solução por uma coluna de vidro de 7,5 cm de altura por 1,2 cm de diâmetro, contendo resina catiônica Dowex 50W-X8, 100-200 mesh e lavou-se com 30 ml de ácido clorídrico concentrado e 3 ml de solução de iodeto de potássio 1%. Em seguida, lavou-se a coluna com 10 ml de ácido clorídrico concentrado para remoção de potássio e iodeto.

O ^{67}Ga , retido na coluna, foi eluído com 40 ml de solução de ácido clorídrico 3,5 N.

A solução clorídrica foi levada à secura, retomada em 1,5 ml de solução de citrato de sódio 3,8% e esterilizada em autoclave a 120°C durante 45 minutos.

III – CONTROLE DE QUALIDADE:

III.1 – Controle Biológico:

Retirou-se 0,5 ml de solução esterilizada e efetuaram-se os ensaios para verificação da esterilidade da solução, usando-se os meios de cultura seguintes: 1) caldo simples, a 37°C durante 48 horas para verificação da presença de microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos; 2) caldo tioglicolato de sódio, a 37°C durante 48 horas para investigar a presença de anaeróbios e 3) caldo Sabouraud, à temperatura ambiente durante 10 dias para verificar a presença de fungos e leveduras. O ensaio de pirogênios foi realizado pelo método "in vitro", usando-se o "Kit Pyrogen Test" da Mallinckrodt.

Não se verificou a presença de microrganismo ou pirogênios nas amostras analisadas.

III.2 – Controle Químico:

Para determinação de zinco, realizou-se o "spot test" com ferrocianeto de potássio. Misturaram-se, em três tubos de ensaio, cinco gotas de uma solução de ferrocianeto de potássio 5% com, respectivamente, a) Cinco gotas de solução final de citrato de gálio; b) Cinco gotas de água destilada e c) Cinco gotas de uma solução padrão contendo 20 $\mu\text{g Zn}^{2+}/\text{ml}$. O aparecimento de um precipitado branco apenas no tubo contendo solução de zinco, cinco minutos após a adição da solução de

ferrocianeto, indicou um produto com concentração em $Zn^{2+} \leq 20 \mu g/ml$. A determinação da quantidade de ferro na solução final de citrato de gálio, foi efetuada por espectrofotometria de absorção atômica, usando-se o Espectrofotometro Perkin-Elmer 372. O produto final apresentou concentração de Fe da ordem de $10 \mu gFe/mCi \text{ } ^{67}Ga$, aceitável para uso médico⁽¹¹⁾.

III.3 – Pureza Radioativa:

As atividades das soluções efluentes e eluída com HCl 3,5 N foram determinadas por espectrometria gama, usando-se um detector de Ge(Li) Ortec modelo 8001-0222, acoplado a um analisador (HP) de 2048 canais.

A Figura 1 apresenta o espectro de raios gama da solução efluente onde são observados os fótons de 122 KeV de ^{57}Co formado pela reação $^{64}Zn(p,2\alpha)^{57}Co$ e de 1116 KeV de ^{65}Zn , e também os fótons de 93, 184 e 300 KeV de ^{67}Ga , além dos fótons de aniquilação de 511 KeV.

A Figura 2 mostra o espectro de raios gama da solução eluída, apresentando os fótons de ^{67}Ga e, os fótons 833 e 1040 KeV de ^{66}Ga , além dos fótons de aniquilação de 511 KeV.

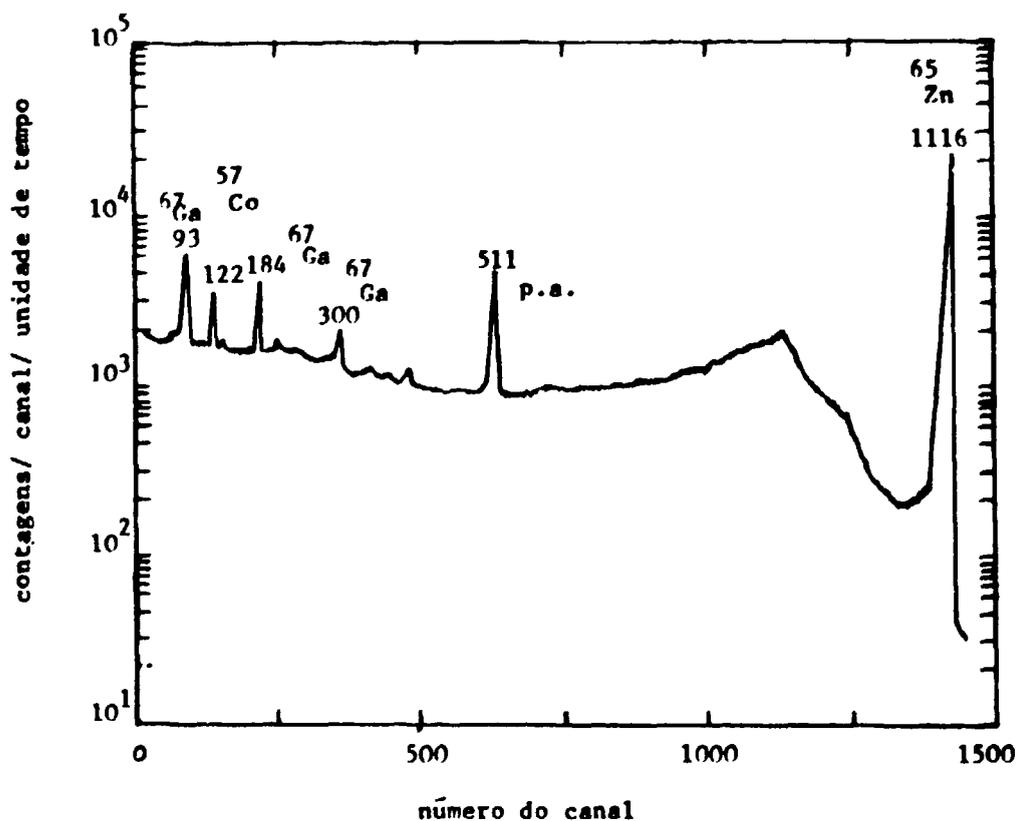


Figura 1 – Espectro de Raio- γ da Solução Efluente.

Ge(Li); E (KeV);
10 cm do detector;
60 minutos de contagem;
6 dias após irradiação.

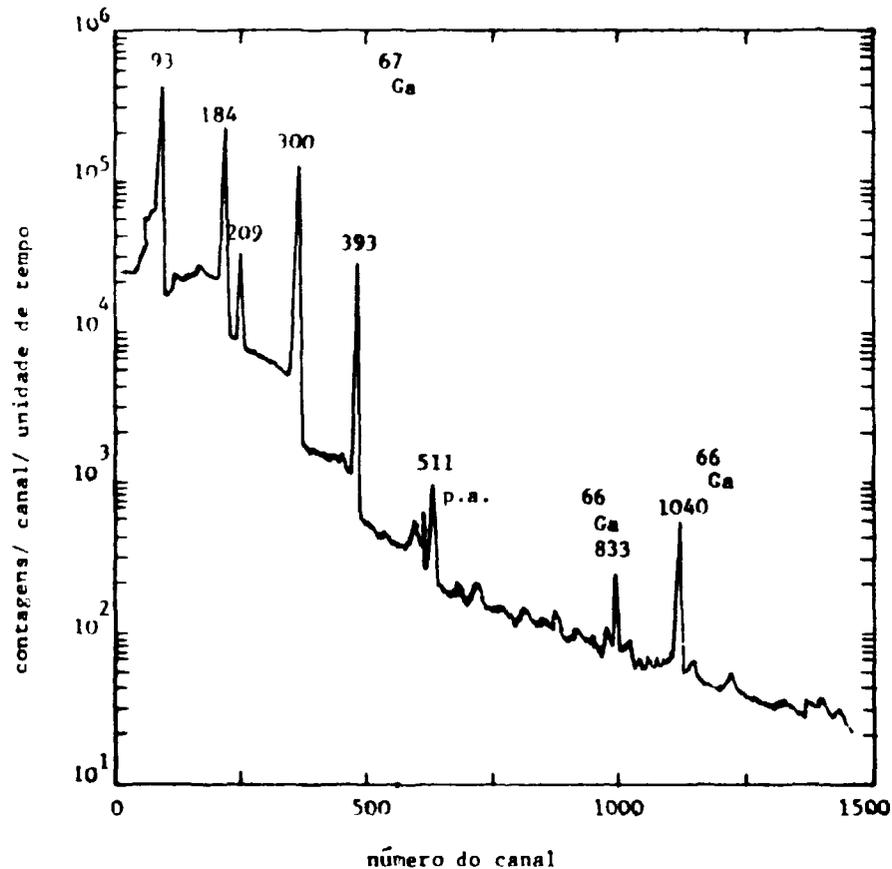


Figura 2 – Espectro de Raio- γ da Solução Eluída

Ge(Li); E (KeV);
21 cm do detector;
20 minutos de contagem;
5 dias após irradiação.

Para efeito de cálculo das porcentagens de retenção e de eluição de ^{67}Ga , considerou-se o número de contagens obtido no pico de 300 KeV. Para isto, recolheu-se 1 ml das soluções influente, efluente e eluída. Os valores encontrados para as porcentagens de retenção e de eluição foram 99% e 90%, respectivamente. A porcentagem de ^{66}Ga no produto final foi determinada pela relação de área dos picos nas energias de 300 KeV do ^{67}Ga e de 1040 KeV do ^{66}Ga considerando-se a eficiência do detector em cada energia. Essa porcentagem foi de 0,5% coincidente com os dados da literatura⁽⁹⁾.

IV – APLICAÇÕES DA SOLUÇÃO DE CITRATO DE GÁLIO-67:

Amostras de citrato de gálio-67 foram injetadas endovenosamente em ratos da raça Wistar com abscessos experimentais, previamente provocados na pata posterior esquerda. Para tanto, cerca de 100 μCi foram administrados, controlando-se o acúmulo no volume do abscesso com câmara de cintilação (Pho/Gamma HP, acoplada a um analisador de dados HP 5407A) decorridos 72 a 120 horas de injeção.

As Figuras 3 e 4 mostram as imagens obtidas em ratos: controle e com abscesso, 72 horas após a injeção da solução. Na Figura 4, observa-se o perfil radioativo de um corte transversal na altura do tumor evidenciando o maior acúmulo ao nível do abscesso.

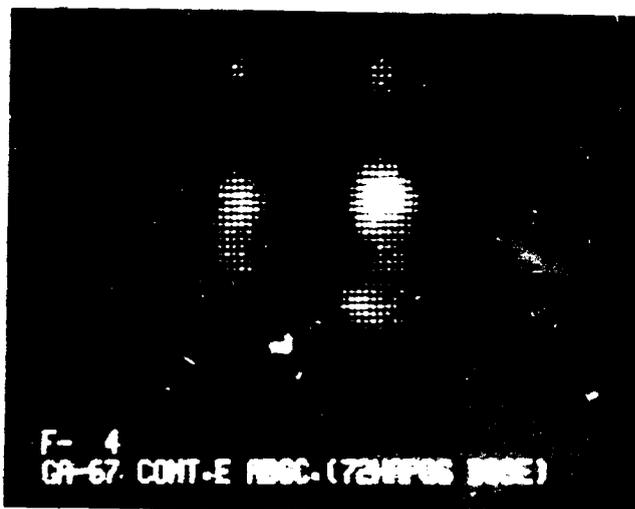


Figura 3 – Imagens Obtidas 72 horas após Injeção do Citrato de Gálio-67.
Ratos: controle e com abscesso .

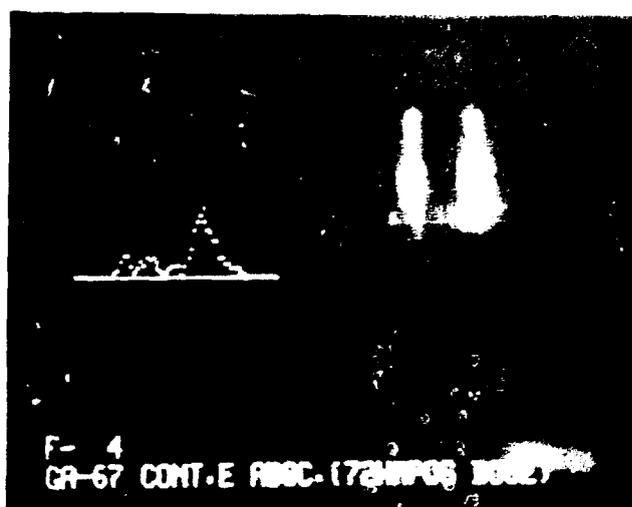


Figura 4 – Imagens Obtidas 72 horas após Injeção do Citrato de Gálio-67, e Perfil Radioativo de um Corte Transversal na Altura do Tumor.
Ratos: controle e com abscesso.

A Figura 5 apresenta as imagens obtidas com outros dois ratos, 120 horas após a injeção. As posições dos ratos: controle e com abscesso estão invertidas em relação às posições nas figuras anteriores.

Posteriormente, o citrato de gálio-67 (2,7 mCi) foi injetado por via endovenosa em paciente com neuroblastoma da supra-renal esquerda extirpada, porém, metastetizada para gânglios e osso. A concentração do indicador nas lesões secundárias foi comprovada por meio de cintilografia de corpo inteiro em câmara de cintilação, 72 horas após a injeção.

A Figura 6 apresenta projeções (anterior e posterior) de corpo inteiro do paciente. A imagem revela concentração do radiofármaco na cabeça, na região pélvica ao nível da articulação coxo-femural esquerdo e na região infra-escapular esquerda.

Como o tumor primitivo estava situado em íntimo contato com os rins, tornava-se necessário elucidar se as últimas lesões descritas seriam recidivas ou metásteses ganglionares. Para tanto, efetuou-se uma cintilografia com DTPA ^{99m}Tc . Na Figura 7, apresentam-se as imagens obtidas com ^{67}Ga , com DTPA ^{99m}Tc e as imagens superpostas indicando a presença de lesões longe das áreas renais.



Figura 5 – Imagens Obtidas 120 horas após Injeção do Citrato de Gálio-67.
Ratos: com abscesso e de controle.



Figura 6 - Projeções (anterior e posterior) de Corpo Inteiro do Paciente.

V – RESULTADOS E CONCLUSÕES:

Os radioisótopos produzidos no ciclotron, pelas irradiações das placas de zinco com prótons, foram apenas isótopos do gálio (^{66}Ga e ^{67}Ga), o ^{65}Zn e o ^{57}Co .

No final de cada experimento, obteve-se 1 ml de solução esterilizada de citrato de gálio-67, com atividade de três a cinco milicurie, contendo concentrações em ferro e zinco de $10\ \mu\text{gFe/mCi}$ e $20\ \mu\text{gZn}^{2+}/\text{ml}$, respectivamente^(1,2).

As aplicações da solução de citrato, tanto em animais quanto em humanos foram bem sucedidas. Ocorreu elevada captação do radioisótopo nos tecidos afetados. As imagens obtidas, mostraram que a presença de ferro no produto final ($10\ \mu\text{g Fe/mCi}$) não inibiu a absorção de gálio no tumor⁽⁸⁾.

A atividade de três a cinco milicurie, produzida em cada experimento, corresponde àquela utilizada na cintilografia em humanos.

ABSTRACT

A method of preparation of carrier free ^{67}Ga is described.

Natural zinc plates were irradiated with protons, in the cyclotron CV-28 of the Instituto de Engenharia Nuclear – Rio de Janeiro. After a decay period of four days, the irradiated targets were dissolved in concentrated hydrochloric acid and the solution percolated through a glass column containing cationic resin. The ^{67}Ga was eluted with 3,5 N hydrochloric acid.

The eluted solution was evaporated to dryness, taken up in 3,8% sodium citrate solution and sterilized. Sterility essays were carried out according to the requirements of the U.S. Pharmacopeia.

Chemical purity of gallium-67 citrate was determined by means of spot test and atomic absorption spectrophotometry. The radioactive purity was verified by gamma spectrometry.

The product was endovenously injected into Wistar rats with experimental abscesses and in patient with adrenal neuroblastoma.

The results of these tests show a high accumulation of ^{67}Ga in soft tissue tumors.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Arthur Gerbasi do Instituto de Engenharia Nuclear – Rio de Janeiro – pelas possibilidades de irradiação. À Dra. Anneliese Fischer Thom do Hospital Albert Einsten pela aplicação clínica do Radiofármaco e à Dra. Nilda Sosa de Pereira pelo auxílio na realização dos ensaios biológicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. ANDO, A. & HISADA, K. Affinity of Ga-67 for malignant tumor. *Radioisotopes*, 19:239-46, 1970.
2. BROWN, C. C. Chemical processing of cyclotron produced ^{67}Ga . *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, 22:210-3, 1971.

(*) As referências bibliográficas relativas a documentos localizados pelo IPEN foram revistas e enquadradas na NB-66 de Associação Brasileira de Normas Técnicas.

3. CHAUDRI, M.A.; LAVENDER, J. P.; BARKER, J. R, et alii. ^{67}Ga citrate for localization in neoplastic and inflammatory tissue. Society of Nuclear Medicine, 8th annual meeting, Sept. 1970, Hannover, Germany apud LANGHAMMER, H.; GLAUBITT, G.; GREBE, S. F.; HAMPE, J. F.; HAUBOLD, U.; HOR, G.; KAUL, A.; KOEPPE, P.; KOPPENHAGEN, J.; ROEDLER, H. D.; SCHOOT, J. B. Van Der. ^{67}Ga for tumor scanning. *J. Nucl. Med.*, 13(1):25-30, 1972.
4. DUDLEY, H. C.; MADDOX, G. E.; La Rue, H. C. Studies of the metabolism of gallium. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 96:135-5, 1949. gallium.
5. EDWARDS, C. L. & HAYES, R. L. Tumor scanning with ^{67}Ga citrate. *J. Nucl. Med.*, 10:103-5, 1969.
6. EDWARDS, C. L.; HAYES, R. L.; NELSON, B. M.; TEHRANIAN, N. Clinical investigation of ^{67}Ga for tumor scanning. *J. Nucl. Med.*, 11:316-7, 1970.
7. HAYES, R. L.; NELSON, B.; SWARTZENDRUBER, D. C.; CARLTON, J. E.; BYRD, B. L. Gallium-67 localization in rat and mouse tumors. *Science*, 167:289-90, 1970.
8. HOFFER, P. Gallium mechanisms. *J. Nucl. Med.*, 21:282-5, 1980.
9. HUPF, H. B. & BEAVER, J. E. Cyclotron production of carrier-free gallium 67. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, 21:75-9, 1970.
10. NEIRINCKX R, D. MERWE, M. J. Van Der. Production of iron-free and carrier-free gallium-67. *Radiochem. Radioanal. Letters*, 7(1):31-5, 1971.
11. SILVESTER, D. J. & THAKUR, M. L. Cyclotron production of carrier-free gallium-67. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, 21:630-1, 1970.

**COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**

Caixa Postal, 11049 – Pinheiros

CEP 05508

01000 – São Paulo – SP

Telefone: 211-6011

Endereço Telegráfico – IPENUCLEAR

Telex – (011) 23592 - IPEN - BR