



**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**

Mestrado Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde

**VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE PUREZA RADIOQUÍMICA EM IOD-IPEN-123**

**ALIDE CRISTINA PINTO CELESTINO**

**Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde na área de Radiofarmácia.**

**Orientadora: Profa. Dra. Margareth Mie Nakamura Matsuda.**

**São Paulo**

**2022**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
Mestrado Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde

**VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE PUREZA RADIOQUÍMICA EM IOD-IPEN-123**

**ALIDE CRISTINA PINTO CELESTINO**

**Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde na área de Radiofarmácia.**

**Orientadora: Profa. Dra. Margareth Mie Nakamura Matsuda.**

**São Paulo  
2022**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Como citar:

CELESTINO, A. C. P. *Validação de Método de Pureza Radioquímica em IOD-IPEN-123*. 2022. 82 fls. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em <<http://repositorio.ipen.br/>> (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa).

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN/USP, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Celestino, Alide Cristina Pinto

Validação de Método de Pureza Radioquímica em IOD-IPEN-123 / Alide Cristina Pinto Celestino; Orientadora Margareth Mie Nakamura Matsuda. – São Paulo, 2022. 82 fls.

Dissertação (Mestrado Profissional) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde (Medicina Nuclear e Processos de Radiação na Saúde) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2022.

1. Tireoide. 2. Radiofármacos. 3. Pureza radioquímica. 4. Validação analítica. I. Matsuda, Margareth Mie Nakamura, orient. II. Título.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: Alide Cristina Pinto Celestino

Título: Validação de Método de Pureza Radioquímica em IOD-IPEN-123

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre pelo programa de Pós-graduação Stricto-Sensu – Mestrado Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde ao IPEN-CNEN/SP na área de concentração de Radiofarmácia.

Data: 03/08/2022

### Banca Examinadora

Prof. Dr.: Margareth Mie Nakamura Matsuda

Instituição: IPEN-CNEN/SP Julgamento: Aprovada

Prof. Dr.: Luís Alberto Pereira Dias

Instituição: IPEN-CNEN/SP Julgamento: Aprovada

Prof. Dr.: Fabio Luiz Navarro Marques

Instituição: FMUSP Julgamento: Aprovada

## Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por ser a minha força, ser a minha maior inspiração diária e extremamente presente em meus dias.

Aos meus pais, por serem a minha base e minha segurança em todos os momentos.

Ao meu irmão e minha cunhada, pelo apoio recebido e por me proporcionarem a graça de ser tia de duas princesas.

Às minhas sobrinhas, que eu amo de uma forma incrivelmente linda.

A minha orientadora, pela parceria, amizade, confissões, a qual me acolheu com grande sabedoria e com o coração aberto a ensinar. Muito obrigada por todos os momentos compartilhados.

Ao professor Goro pela paciência e pelo apoio na realização da análise estatística.

Ao IPEN, profissionais e funcionários que me permitiram vivenciar momentos únicos que me ajudaram a evoluir profissionalmente.

Por fim, agradeço a todos meus amigos que fizeram uma diferença incrível nos meus dias, alguns longe fisicamente, mas sempre presente em meu coração, foi imensuravelmente maravilhoso receber o carinho de cada um. E, a todos que direta ou indiretamente fizeram meus momentos melhores, mesmo sem a percepção. O meu sincero agradecimento, **muito obrigada!**

## RESUMO

A tireoide é uma glândula endócrina controlada pela hipófise (sistema hipotálamo hipófise) e regulada pelo sistema nervoso (neuroendócrino). Está localizada na região cervical, adiante da traqueia e apresenta a função de regular o metabolismo do corpo, influenciar o funcionamento de diversos órgãos como coração, cérebro, fígado e os rins. A presença de disfunções na glândula tireoide pode desencadear hipotireoidismo ou hipertireoidismo, e possíveis aparecimentos de nódulos, assim como de neoplasias. A medicina nuclear é uma especialidade médica que usa radiofármacos, medicamentos formados por um ligante e um radionuclídeo, sendo este responsável pela emissão da radiação em exames diagnósticos ou tratamentos terapêuticos e alguns procedimentos cirúrgicos. A cintilografia da tireoide é um exame da medicina nuclear que utiliza radiofármacos com iodo-131 ou iodo-123. A radiação gama emitida pelo iodo é captada por detectores do equipamento SPECT (tomografia computadorizada por emissão de fóton único) que produz imagem da distribuição do radionuclídeo no órgão. As imagens permitem avaliar a função do órgão e, quando associadas com imagens radiológicas de alto detalhe anatômico, como a tomografia computadorizada (SPECT/CT), aumentam a capacidade diagnóstica. Os radiofármacos apresentam tempo de meia-vida física relativamente curto, indo de minutos até alguns dias e devem atender a especificações de qualidade. Em muitos casos, eles são liberados para administração no paciente após a sua produção, antes da obtenção dos resultados de todos os ensaios de controle de qualidade. Para isso, um sistema de garantia da qualidade deve ser implementado para o uso eficiente e seguro em humanos. O controle de qualidade é um conjunto de operações com o objetivo de verificar e assegurar que os radiofármacos são produzidos de acordo com as Boas Práticas de Fabricação (BPF). Para o atendimento pleno às BPF, é imprescindível que os métodos analíticos de controle de qualidade dos radiofármacos estejam validados de acordo com a legislação específica da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O objetivo deste trabalho foi revisar o protocolo de validação do método de pureza radioquímica do radiofármaco IOD-IPEN-123 e executar a validação completa do método, que consiste em realizar ensaios de seletividade, linearidade, intervalo (ou faixa de trabalho), precisão (repetibilidade e precisão intermediária) e robustez. Os resultados de todos os ensaios atenderam aos requisitos e a pureza radioquímica do produto foi acima de 95%, como especificado na farmacopeia europeia. A execução do protocolo permitiu concluir que a cromatografia em papel é uma técnica adequada para uso na rotina de controle de qualidade para determinação da pureza radioquímica de IOD-IPEN-123.

**Palavras-chave:** Tireoide, Radiofármacos, Pureza radioquímica, Validação analítica.

## ABSTRACT

The thyroid is an endocrine gland controlled by the hypophysis gland (hypothalamic hypophysis system) and regulated by the nervous system (neuroendocrine). It is located in the cervical region, in front of the trachea and has the function of regulating the body's metabolism, influencing the functioning of various organs such as the heart, brain, liver and kidneys. The presence of dysfunctions in the thyroid gland can trigger hypothyroidism or hyperthyroidism, and possible appearance of nodules, as well as neoplasms. Nuclear medicine is a medical specialty that uses radiopharmaceuticals, medicines formed by a ligand and a radionuclide, which is responsible for the emission of radiation in diagnostic exams or therapeutic treatments and some surgical procedures. Thyroid scintigraphy is a nuclear medicine procedure that uses radiopharmaceuticals with iodine-131 or iodine-123. The gamma radiation emitted by iodine is captured by detectors of the SPECT equipment (single photon emission computed tomography), which produces an image of the distribution of the radionuclide in the organ. The images allow the evaluation of the organ function and, when associated with radiological images of high anatomical detail, such as computed tomography (SPECT/CT), increase the diagnostic capacity. Radiopharmaceuticals have a relatively short physical half-life, ranging from minutes to a few days, and must meet quality specifications. In many cases, they are released for administration to the patient after the production, before the results of all quality control assays are obtained. For this, a quality assurance system must be implemented for efficient and safe use in humans. Quality control is a set of operations aimed at verifying and ensuring that radiopharmaceuticals are produced in accordance with Good Manufacturing Practices (GMP). For full compliance with GMP, it is essential that the analytical methods of quality control of radiopharmaceuticals are validated in accordance with the specific legislation of the National Health Surveillance Agency (ANVISA). The objective of this work was to review the validation protocol of the radiochemical purity method of the radiopharmaceutical IOD-IPEN-123 and to carry out the complete validation of the method, which consists of performing selectivity, linearity, interval (or working range), precision (repeatability and intermediate precision) and robustness. The results of all tests met the requirements and the radiochemical purity of the product was above 95%, as specified in the European Pharmacopoeia. The execution of the protocol allowed us to conclude that paper chromatography is a suitable technique for routine use in quality control to determine the radiochemical purity of IOD-IPEN-123.

**Keywords:** Thyroid, Radiopharmaceuticals, Radiochemical purity, Analytical validation.

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Sistema Hipotálamo-Hipófise e a regulação da secreção de hormônios tireoidianos (T4, T3 e Calcitonina) por feedback negativo .....	18
Figura 2 - Classificação clínica dos nódulos tireoidianos .....	19
Figura 3 - O encontro de um pósitron e um elétron promove aniquilação e produção de dois fótons de 0,511 MeV (A). O momento em que o fóton de 0,511 MeV é registrado pelo detector circular de raios gama na câmara PET .....	31
Figura 4 - Fita cromatográfica Whatman 3 MM .....	43
Figura 5 – A. Aplicação da amostra do radiofármaco na fita cromatográfica. B. Fitas cromatográficas em ganchos na tampa da cuba de vidro. ....	45
Figura 6 - Representação gráfica da linearidade entre contagem (cpm) e concentração radioativa de I-123. Curva 1; Curva 2 e Curva 3. ....	54
Figura 7 – Gráfico de dispersão de resíduos .....	56
Figura 8 - Análise gráfica da distribuição da Precisão – Repetibilidade .....	58
Figura 9 - Análise gráfica da distribuição da Precisão – Precisão Intermediária.....	59
Figura 10 - Representação gráfica da correlação da Repetibilidade x Precisão intermediária. ....	61



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros analisados no protocolo de validação de método de pureza radioquímica .....	41
Tabela 2 - Experimentos no ensaio de seletividade.....	46
Tabela 3 - Descrição do experimento de seletividade.....	47
Tabela 4 - Dados das concentrações radioativas e volumes da amostra .....	49
Tabela 5 - Condição dos ensaios conforme variáveis descritas na tabela 4.....	50
Tabela 6 - Critérios de aceitação do Rf de I-123 no ensaio de seletividade .....	51
Tabela 7 - Contagem (cpm) nas fitas cromatográficas, no ensaio de seletividade .....	52
Tabela 8 - Resultados de Rf de IOD-IPEN-123 no ensaio de pureza radioquímica no ensaio de seletividade .....	53
Tabela 9 – Resultado das contagens (cpm) das 6 concentrações radioativas de I-123 .....	54
Tabela 10 - Tratamento estatístico dos dados de linearidade. A. ANOVA, B. Coeficientes, C. Regressão, D. Resíduos.....	55
Tabela 11 - Parâmetros e critérios de aceitação do ensaio de precisão .....	57
Tabela 12 - Resultados de pureza radioquímica no ensaio de repetibilidade: contagens (cpm) em cada segmento das 6 fitas. ....	57
Tabela 13 – Contagens (cpm) em cada segmento das 6 fitas - Resultados de pureza radioquímica no ensaio de precisão intermediária .....	58
Tabela 14 - A. Resultados da pureza radioquímica do IOD-IPEN-123 na Repetibilidade e Precisão Intermediária e B. Desvio padrão relativo de resultados da pureza radioquímica de dois analistas.....	60
Tabela 15 - Resultados de pureza radioquímica no ensaio de Robustez - Experimento 1: concentração 1,2 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ (A) com volume de 5 $\mu\text{L}$ (B) .....	62
Tabela 16 - Resultados de pureza radioquímica no ensaio de Robustez – Experimento 2: concentração 1,2 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ (A) com volume de 2 $\mu\text{L}$ (b) .....	62
Tabela 17 - Resultados de pureza radioquímica no ensaio de Robustez - Experimento 3: concentração 0,5 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ (a) com volume de 5 $\mu\text{L}$ (B) .....	62
Tabela 18 - Resultados de pureza radioquímica no ensaio de robustez .....	62

**LISTA DE ABREVIATURAS**

A – Número de massa  
ATA – Associação americana de tireoide  
 $\beta^-$  – Partícula Beta com carga negativa  
 $\beta^+$  - Partícula Beta com carga positiva  
BPF – Boas práticas de fabricação  
BMNT- Bócio multinodular tóxico  
Bq - Bequerel  
CDT – Carcinoma diferenciado da tireoide  
CE – Captura eletrônica  
CIT – carcinoma indiferenciado da tireoide  
Ci – Curie (unidade de atividade de radionuclídeos)  
CQ – Controle de Qualidade  
cpm – contagem por minuto  
CMT – carcinoma medular da tireoide  
Cs - Elemento químico Césio  
d - Deutério  
dps – Desintegração por segundo  
He - Elemento químico Hélio  
I - Elemento químico iodo  
IT - Instruções de Trabalho  
MeV – megaelétron-volt  
MN – Medicina Nuclear  
n – Nêutrons  
NIS – Proteína simportador de sódio-iodeto  
p - prótons  
PAAF – biópsia por agulha fina  
Po – Elemento químico Polônio  
POP – Procedimento Operacional Padrão  
Ra - Elemento químico Rádio  
Rf – Fator de retardamento  
RDC - Resolução da diretoria colegiada  
Receptor HT – Receptor do hormônio tireoidiano  
Sb - Elemento químico Antimônio  
Te - Elemento químico Telúrio  
TRH – Hormônio estimulante de tireotrofina  
TSH – Hormônio tireoestimulante  
 $T_{1/2}$  – Tempo de meia-vida física  
T3 – Triiodotironina  
T4 – Tiroxina  
U – Elemento químico Urânio  
US – Ultrassonografia  
Xe - Elemento químico Xenônio  
Z – Número atômico

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
2.1. Objetivo Geral .....	16
2.2. Objetivo Específico .....	16
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
3.1. Tireoide.....	17
3.2. Disfunções da tireoide.....	18
3.3. Diagnóstico das disfunções da tireoide .....	20
3.4. Medicina Nuclear .....	21
3.4.1. Breve Histórico da utilização da Radiação na saúde .....	22
3.4.2. Noções de Radioatividade .....	23
3.4.3. Radiofármacos .....	24
3.4.4. Radiofármacos Iodados .....	25
a. Radiofármaco IOD-IPEN-131 .....	26
b. Radiofármaco IOD-IPEN-123 .....	27
c. Outros Radiofármacos Iodados .....	28
3.4.5. Medicina Nuclear Terapêutica .....	29
3.4.6. Medicina Nuclear Diagnóstica .....	30
a. SPECT .....	30
b. PET .....	31
3.4.7. Captação Tireoidiana e Cintilografia da Tireoide .....	32
a. Captação Tireoidiana .....	32
b. Cintilografia da Tireoide .....	32
3.5. Produção de Radiofármacos .....	33
3.6. Garantia de qualidade .....	35
3.6.1. Boas Práticas de Fabricação .....	36
3.6.2. Controle de qualidade .....	36
3.7. Pureza radioquímica e cromatografia .....	37
3.8. Validação de método analítico .....	38
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>42</b>
4.1. Especificação da amostra .....	42
4.2. Material e soluções utilizadas .....	42
a. Material .....	43
b. Soluções utilizadas.....	43
4.3. Preparo da bancada .....	43

4.4.	Preparo das soluções .....	43
a.	Preparo da fase móvel (solvente) .....	43
b.	Preparo do diluente .....	44
c.	Preparo da cuba .....	44
d.	Preparo da amostra radioativa .....	44
e.	Ensaio .....	44
e.1.	Fita cromatográfica .....	44
e.2.	Leitura da atividade .....	45
4.5.	Parâmetros avaliados na Validação Analítica.....	46
4.5.1.	Seletividade .....	46
4.5.2.	Linearidade .....	47
4.5.3.	Precisão .....	48
4.5.4.	Exatidão .....	49
4.5.5.	Robustez .....	49
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>51</b>
5.1.	Seletividade .....	51
5.2.	Linearidade .....	53
5.3.	Intervalo .....	56
5.4.	Precisão.....	56
5.5.	Robustez .....	61
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>64</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>65</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A tireoide é uma glândula endócrina controlada pela hipófise e regulada pelo sistema nervoso (neuroendócrino), está localizada na região cervical, adiante da traqueia, apresenta a função de regular o metabolismo do corpo, assim como influenciar no funcionamento de diversos órgãos, como coração, cérebro, fígado e os rins (Soares *et al.*, 2020).

No hipotálamo, o hormônio estimulante de tireotrofina (TRH) é sintetizado e, ao ser liberado na corrente sanguínea age na hipófise, estimulando a produção do hormônio tireoestimulante (TSH). O TSH atua diretamente na glândula tireoide promovendo a síntese dos hormônios tiroxina (T4) e triiodotironina (T3), que são os principais reguladores do metabolismo, atua na manutenção da temperatura corpórea, funções de peristaltismo, batimentos cardíacos, humor, metabolismo de proteínas, lipídios e vitaminas, atuando também na potencialização de outros hormônios (Soares *et al.*, 2020; Kubo *et al.*, 2018; Katsung, 2017).

O não funcionamento correto da glândula tireoide pode desencadear alteração na produção de hormônios tireoidianos T3, T4 e calcitonina, levando o indivíduo a um quadro de hipotireoidismo ou hipertireoidismo. O hipertireoidismo é uma doença multissistêmica provocada pelo excesso de hormônios tireoidianos. Já o hipotireoidismo é uma disfunção da glândula tireoide, na qual a produção dos hormônios encontra-se abaixo dos níveis séricos adequados (Soares *et al.*, 2020; Kubo *et al.*, 2018). Aproximadamente 5% dos indivíduos portadores dos distúrbios da tireoide desenvolvem um nódulo palpável durante alguma época da sua vida (Soares *et al.*, 2020).

O diagnóstico para a avaliação da funcionalidade da glândula tireoide deve ser realizado através da dosagem de TSH, palpação física da glândula tireoide, como também a realização de exames como: ultrassonografia (US), cintilografia da tireoide (Rosário *et al.*, 2013).

A secreção do TSH é pulsátil e possui um ritmo circadiano com os maiores pulsos de secreção ocorrendo entre 22 h e 4 h da madrugada, sendo seus níveis médios entre cerca de 1,3 e 1,4 mUI/L, com limites inferiores entre 0,3 e 0,5 mU/L e limites superiores entre 3,9 e 5,5 mUI/L (Bergmann *et al.*, 2015; Carvalho *et al.*, 2013).

A cintilografia de tireoide, um exame realizado pela Medicina Nuclear (MN), evidencia a distribuição do radiomarcador iodo na glândula tireoide e tem indicações limitadas na avaliação do hipertireoidismo. É caracteristicamente difusa na Doença de Graves e heterogênea no Bócio Multinodular Tóxico (BMNT). A principal indicação da cintilografia é na suspeita de adenoma folicular hiperfuncionante (nódulo quente) (Maia *et al.*, 2013).

A MN é uma especialidade médica que usa substâncias radioativas chamadas radiofármacos, para realizar exames diagnósticos e tratamentos terapêuticos e auxiliar alguns

procedimentos cirúrgicos para fornecer informações, que outros exames diagnósticos não permitem (Novales *et al.*, 2014; Pozzo *et al.*, 2014; Araújo *et al.*, 2008).

A MN diagnóstica utiliza a radiação ionizante emitida pelos radiofármacos com a finalidade de visualizar a anatomia de um órgão ou sistema, avaliar o comportamento fisiológico nos tecidos, analisar o comportamento bioquímico através do seu metabolismo, assim como determinar quantitativamente seus parâmetros farmacocinéticos (Novales *et al.*, 2014; Araújo *et al.*, 2008). Os radiofármacos compreendem, também, os componentes não-radioativos para marcação e os precursores radiofarmacêuticos, incluindo-se os componentes extraídos dos geradores de radionuclídeos (ANVISA, RDC 451, 2020; Novales *et al.*, 2014).

Os radionuclídeos são átomos com núcleo instável emissores de radiação que pode ser detectada em gama câmara (Vermeulen *et al.*, 2019; Garcez *et al.*, 2017). O radionuclídeo de grande importância na cintilografia de tireoide é o iodo-131 ou iodo-123. O elemento iodo, radioativo ou não, é absorvido pelo organismo humano preferencialmente pela glândula tireoide, onde se concentra (Cordeiro, 2013).

O iodo-131 é um radionuclídeo emissor de partícula beta ( $\beta$ ) com meia-vida física de 8,1 dias, com energia máxima de 0,61 MeV, energia média de 0,192 MeV e um raio gama ( $\gamma$ ) principal com energia de 0,364 MeV (Silberstein *et al.*, 2012). Sempre que possível, o iodo-123 pode substituir o iodo-131 para fins diagnósticos. O iodo-123 possui meia-vida física comparativamente mais curta (13,2 horas) e, sua energia de fóton principal (0,159 MeV) é mais adequada para a gama câmara. O iodo-123 desintegra-se por meio de captura eletrônica, e a dosimetria é favorável em comparação com a do iodo-131 nos estudos da captação funcional da glândula tireoide (Ziessman *et al.*, 2015).

As preparações radiofarmacêuticas apresentam, em sua maioria, um radionuclídeo de tempo de meia-vida física curta, podendo variar de minutos até alguns dias, como o oxigênio-15 com 2,07 minutos, carbono-11 com 20,4 minutos e o iodo-131 com 8,1 dias. A curta validade desses produtos requer que os radiofármacos sejam liberados e administrados aos pacientes pouco tempo após sua produção, e desta forma, os resultados de certos ensaios de controle de qualidade podem, eventualmente, ser retrospectivos (ex. ensaio de esterilidade, pureza radionuclídica). Por isso, um programa de Garantia da Qualidade bem estabelecido é, portanto, essencial para assegurar a qualidade desses produtos radioativos para serem administrados no organismo humano (Araújo *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2006; ANVISA, RDC 658, 2022; ANVISA, IN 128, 2022). Testes de controle de qualidade devem ser, preferencialmente, de baixo custo e devem estar detalhadamente descritos em Procedimentos Operacionais Padrão (POP) ou Instruções de Trabalho (IT) para que possam ser seguidos e executados com repetibilidade adequada, a fim de evitar que os resultados inadequados induzam a ocorrência de artefatos nas imagens, assim como o aumento de dose

de radiação aos pacientes e profissionais envolvidos na prática clínica, com consequente remarcação de exames (Tavares *et al.*, 2015).

Particularmente quando o produto necessita ser liberado antes da conclusão dos ensaios de controle de qualidade, as validações constituem atividades essenciais para garantir o atendimento às Boas Práticas de Fabricação (BPF). Validação é um processo estabelecido por evidências experimentais que geram documentos para comprovar que uma atividade específica apresenta conformidade com as especificações pré-determinadas e atende aos requisitos de qualidade. O objetivo da validação de método analítico consiste em demonstrar que um determinado método analítico é adequado ao que se propõe; ou seja, garante que a metodologia analítica atende a uma série de parâmetros estabelecidos, como: seletividade, linearidade, intervalo (faixa de trabalho), precisão, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e robustez, e apresenta o desempenho esperado (Araújo *et al.*, 2008; ANVISA, RDC 166, 2017).

## **2. OBJETIVOS**

### **a. Geral**

Revisar o protocolo e executar a validação do método de pureza radioquímica do radiofármaco IOD-IPEN-123.

### **b. Específico**

Adequar o protocolo de validação do método de pureza radioquímica à RDC 166, de 2017

Realizar os ensaios descritos no protocolo de validação do método de pureza radioquímica do radiofármaco IOD-IPEN-123, e realizar o tratamento estatístico conforme Guia 10, de 2017.



### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Tireoide

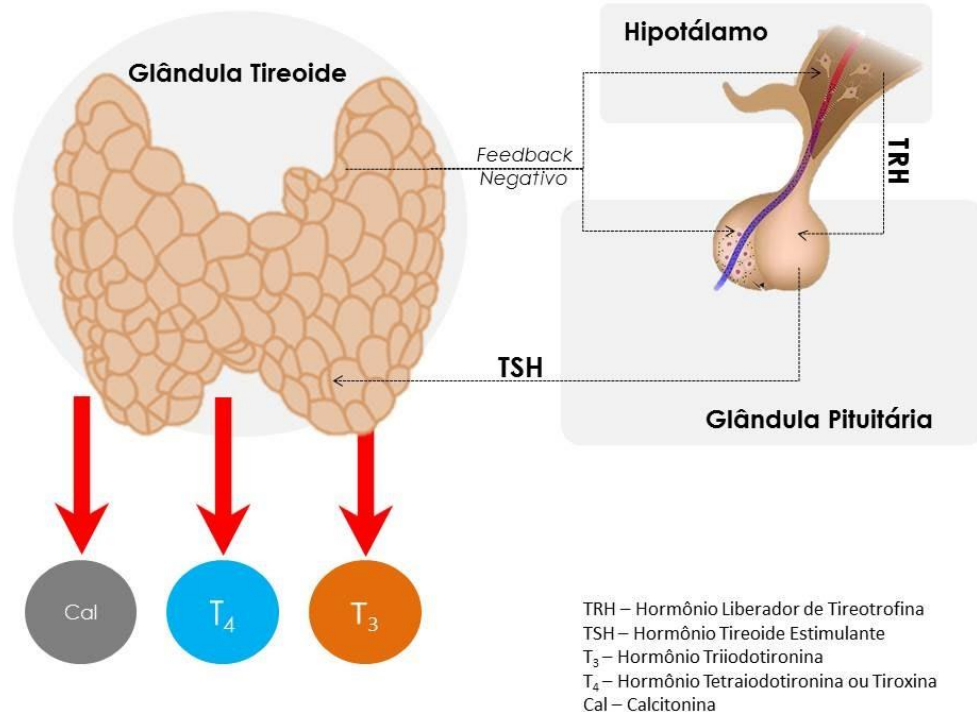
Tireoide é uma palavra de origem grega (thyreo) que significa escudo, foi descrita detalhadamente pela primeira vez em 1470, por Leonardo da Vinci (Medeiros, 2005). É uma glândula endócrina localizada na região anterior do pescoço, sobre a cartilagem tireoide (Sales *et al.*, 2017; Ziessman *et al.*, 2015). Em um indivíduo adulto normal, a massa tireoidiana pode variar de 15 a 25 gramas, sendo influenciada por fatores como sexo, peso, altura e superfície corpórea (Vieira *et al.*, 2011; Sales *et al.*, 2017).

A glândula tireoide é composta por células foliculares (ou epiteliais), células endoteliais, parafoliculares (ou células C), fibroblastos, linfócitos e adipócitos. As células foliculares estão envolvidas na síntese dos hormônios triiodotironina (T3) e tetraiodotironina ou tiroxina (T4); as células endoteliais são as que revestem os capilares responsáveis pelo suprimento sanguíneo dos folículos; já as células parafoliculares, são responsáveis pela produção de calcitonina, hormônio que atua no metabolismo do cálcio (Vieira *et al.*, 2011; Sales *et al.*, 2017).

Os hormônios biossintetizados na tireoide são essenciais para a manutenção da qualidade de vida do ser humano, visto que são fundamentais para o crescimento e desenvolvimento de vários órgãos e tecidos no organismo, assim como manter a temperatura corporal e os níveis energéticos dentro de sua normalidade (Katsung, 2017; Nunes, 2003; Hall, 2011). T4 é o principal hormônio liberado pela tireoide, no entanto apresenta menor afinidade pelos receptores dos hormônios tireoidianos (HT) (Sales *et al.*, 2017) enquanto T3 apresenta atividade biológica (em torno de 5 vezes) e afinidade pelo receptor do hormônio tireoidiano (de 4 a 10 vezes) maior que a do T4 (Nunes, 2003; Sales *et al.*, 2017).

A tireoide é controlada pelo sistema hipotálamo-hipofisário (Katsung, 2017; Nunes, 2003; Hall, 2011); desse modo o hipotálamo produz o hormônio estimulante de tireotrofina (TRH), hormônio que apresenta a função de estimular a hipófise a produzir o hormônio tireoestimulante (TSH) e, ao ser liberado na corrente sanguínea e atingir os receptores expressos nas células tireoidianas, estimula a expressão da proteína simportador de sódio-iodeto (NIS), responsável pela captação de iodeto disponível na corrente sanguínea, e por logo importar para o interior das células foliculares da tireoide (Hall, 2011; Sales *et al.*, 2017). O sistema hipotálamo-hipófise é controlado por feedback negativo, isto é, ao ter um excesso dos hormônios tireoidianos (T3 e T4) na corrente sanguínea, promove um efeito inibidor sobre as secreções de TRH pelo hipotálamo e de TSH pela adeno-hipófise, reduzindo assim a produção de T3 e T4 (Figura 1) (Dayan e Panicker, 2009).

**Figura 1** - Sistema Hipotálamo-Hipófise e a regulação da secreção de hormônios tireoidianos (T4, T3 e Calcitonina) por feedback negativo.



Fonte: Elaborado por IHA, A. H., 2021. Baseada em: <https://www.shutterstock.com/pt/image-vector/human-thyroid-hormones-endocrine-system-hypothalamus-1467644828>.

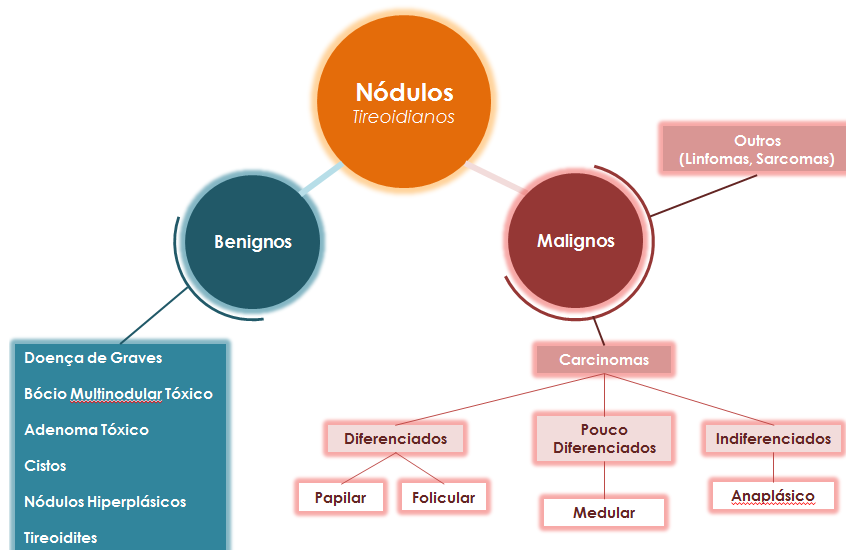
### 3.2. Disfunções da Glândula tireoide

A tireoide é uma glândula endócrina bastante sensível fisiologicamente (Cordeiro, 2013), e qualquer desajuste na produção de hormônio tireoidiano, pode desencadear disfunções e, as principais são quadros de hipotireoidismo ou hipertireoidismo. O hipotireoidismo é uma condição na qual a produção hormonal encontra-se abaixo dos níveis séricos adequados, a tireoidite autoimune também conhecida como tireoidite de Hashimoto, é uma doença clínica em permanente evolução e, é a principal causa de hipotireoidismo primário (Soares *et al.*, 2020; Kubo *et al.*, 2018). O hipertireoidismo é o estado de tireotoxicose, dessa forma tem-se excesso de hormônios tireoidianos, produzidos pela própria glândula tireoide. Sua principal etiologia é a doença de Graves, seguida do bócio multinodular tóxico (BMNT) e do adenoma tóxico (Sales *et al.*, 2017; Ziessman *et al.*, 2015), sendo consideradas doenças benignas da tireoide (Silberstein *et al.*, 2012).

Aproximadamente 5% dos indivíduos portadores dos distúrbios da tireoide desenvolvem um nódulo tireoidiano palpável durante alguma época da vida (Soares *et al.*, 2020). O nódulo tireoidiano é uma lesão dentro do parênquima da tireoide que tem características radiologicamente distintas do parênquima ao redor. Os nódulos tireoidianos são comuns e ocorrem mais frequentemente em mulheres do que em homens e a incidência de nódulos, seja benigno ou maligno, aumenta com a idade (Sales *et al.*, 2017; Ziessman *et al.*, 2015). De certa forma, a maioria dos nódulos tireoidianos é causada por doenças benignas, como nódulos coloides, cistos e tireoidites (em 80% dos casos) (Hoff *et al.*, 2013).

As neoplasias da tireoide são classificadas de acordo com os critérios clínicos e histológicos e compreendem os tumores malignos mais comuns entre os tumores endócrinos e de cabeça e pescoço (Silberstein *et al.*, 2012). As neoplasias malignas da tireoide são denominadas de carcinomas e podem ser classificadas da seguinte forma: carcinomas diferenciados, que inclui os subtipos papilar e folicular, carcinomas pobremente diferenciados, incluindo o subtipo medular e carcinomas indiferenciados, com o subtipo anaplásico (Silberstein *et al.*, 2012; Hoff *et al.*, 2013). Outros cânceres menos comuns na tireoide, são de origem não epitelial, como sarcomas e linfomas da tireoide, lesões metastáticas, teratomas e os hemangiendoteliomas (Figura 2) (Meng *et al.*, 2012; Silberstein *et al.*, 2012; Hoff *et al.*, 2013).

**Figura 2:** Classificação clínica dos nódulos tireoidianos



Fonte: Desenvolvido pela autora e por IHA, A. H, 2021, baseado em Hoff *et al.*, 2013.

O Carcinoma Diferenciado da Tireoide (CDT) é a neoplasia maligna endócrina de maior prevalência no mundo, são denominados diferenciados por possuírem semelhança em sua estrutura e função com o tecido tireoidiano original (Golbert *et al.*, 2005; Sales *et al.*, 2017;

Hoff *et al.*, 2013). De acordo com o Consenso Brasileiro de Nódulos e Câncer Diferenciado de Tireoide, no ano de 2013, os cânceres diferenciados de tireoide apresenta alta incidência, sendo o quarto tipo mais comum de câncer entre as mulheres brasileiras (Sales *et al.*, 2017; Hoff *et al.*, 2013). O CDT compreende a maioria dos cânceres de tireoide, sendo o papilífero, o subtipo mais comum, com 85% de prevalência, seguido do tipo folicular com 10% e, por fim os tumores oncóticos com prevalência de 5% (Sales *et al.*, 2017).

O carcinoma medular da tireoide (CMT) é um tumor neuroendócrino originário de células parafoliculares presentes na tireoide, denominadas células C, é um tipo raro de tumor do tecido tireoidiano, correspondendo a apenas 5% dos tumores da glândula, podendo ser esporádicos ou associados a síndromes genéticas (Sales *et al.*, 2017; Martins *et al.*, 2017; Hoff *et al.*, 2013). São pobremente diferenciados e surge normalmente entre a 5ª e 6ª década de vida, com predominância do sexo feminino, geralmente apresenta como nódulo único, duro e acinzentado, nos terços médios ou superiores da tireoide. Pode infiltrar o parênquima, nas estruturas cervicais como traqueia, esôfago, podendo desencadear a morte precoce por metástases (Martins *et al.*, 2017).

O carcinoma indiferenciado da tireoide (CIT) ou carcinoma anaplásico da tireoide é um tumor que surge da célula epitelial folicular tireoidiana, é a forma mais rara, agressiva e resistente das neoplasias da tireoide, representa 2% das neoplasias malignas da tireoide. Sua prevalência é maior em mulheres e em idosos e, normalmente desencadeia em áreas com deficiência de iodo (Carvalho *et al.*, 2005; Sales *et al.*, 2017; Hoff *et al.*, 2013). O CIT apresenta evidência mínima de diferenciação, rápido crescimento, invasão local precoce e prognóstico extremamente desfavorável. A sobrevida situa-se em torno de 2 a 12 meses, com 90% dos pacientes vindo a falecer no período de 6 meses (Hoff *et al.*, 2013).

### **3.3. Diagnóstico das disfunções da tireoide**

A avaliação desses nódulos é de fundamental importância para a obtenção de um diagnóstico adequado e, conseqüentemente, um tratamento eficaz. O diagnóstico para a avaliação da funcionalidade da glândula tireoide deve ser realizado através da história clínica do paciente (sinais e sintomas), exame físico com a palpação do nódulo e exames laboratoriais (dosagem de TSH sérico), sendo a dosagem do TSH a avaliação inicial dos nódulos tireoidianos, de acordo com a Associação Americana de Tireoide (ATA), sendo seus níveis médios entre cerca de 1,3 e 1,4 mUI/L, com limites inferiores entre 0,3 e 0,5 mU/L e limites superiores entre 3,9 e 5,5 mUI/L (Bergmann *et al.*, 2015; Carvalho *et al.*, 2013; Haugen *et al.*, 2016 e Rosário *et al.*, 2013).

Um dos métodos de diagnóstico bastante realizado em consultórios de endocrinologistas é a biópsia por agulha fina (PAAF), sendo um método sensível, importante

e bastante efetivo no diagnóstico diferencial dos nódulos da tireoide, podendo ainda diferenciar entre lesões malignas e benignas, sendo realizada independente da dimensão do nódulo. Entretanto, nos nódulos não palpáveis, é necessário que PAAF seja guiada pela ultrassonografia (Ziessman *et al.*, 2015).

A ultrassonografia (US) e cintilografia da tireoide são os principais métodos de diagnóstico por imagem para nódulos tireoidianos. US é um excelente método para realizar a detecção de nódulos tireoidianos (Rosário *et al.*, 2013; Haugen *et al.*, 2016), por ser uma técnica simples, barata, amplamente disponível e eficaz para a imagem da tireoide. A US permite avaliar a presença de cistos, o tamanho do nódulo, sua composição e características, como por exemplo se o nódulo é cístico ou sólido (Rosário *et al.*, 2013; Haugen *et al.*, 2016; Hoff *et al.*, 2013).

Outro exame de imagem comumente utilizado para diagnóstico por imagem é a cintilografia da tireoide, a qual proporciona uma informação funcional de um nódulo (Haugen *et al.*, 2016; Ziessman *et al.*, 2015). A cintilografia permite a classificação em hiperfuncionantes (nódulo quente), quando ocorre aumento na produção de hormônio tireoidiano, normalmente com supressão da glândula extranodular. O nódulo hipofuncionantes (nódulo frio), é quando ocorre a redução abrupta da produção de hormônio tireoidiano em comparação ao tecido normal adjacente. O nódulo “morno” é quando ocorre um aumento da captação em comparação ao tecido adjacente, mas sem supressão do tecido extranodular. E, por fim, os indeterminados são nódulos palpáveis ou observados nas imagens anatômicas, mas não são visualizados à cintilografia (Ziessman *et al.*, 2015). A cintilografia da tireoide é um exame realizado pela MN (Rosário *et al.*, 2013).

### **3.4. Medicina Nuclear**

Medicina Nuclear é uma especialidade médica que utiliza métodos seguros e praticamente indolores. São administradas substâncias radioativas chamadas de radiofármacos com a finalidade de realizar exames diagnósticos, tratamentos terapêuticos e auxiliar alguns procedimentos cirúrgicos (Pozzo *et al.*, 2014; Araújo *et al.*, 2008; Garcez *et al.*, 2017; ANVISA, RDC 38, 2008).

A MN teve sua origem em 1924 quando o médico húngaro Hevesy utilizou isótopos radioativos do chumbo como traçadores em estudos ósseos. Os primeiros estudos metabólicos utilizando o radioisótopo do iodo foram realizados por volta de 1934 e foi realizado por Hertz, Roberts e Evans, na qual utilizaram microCuries do iodo-128 para estudo da glândula tireoide em ratos (Catanoso, 2011). Porém, foi a partir da invenção do acelerador de partículas circular – o ciclotron por Ernest Lawrence, em 1932, que tornou possível a produção de isótopos radioativos de diversos elementos (Luiz *et al.*, 2011). Esse fato proporcionou obter

uma maior quantidade de espécies passíveis de serem usadas como radiotraçadores na investigação de possíveis anormalidades (Leitha, 2009).

A partir de 1960, devido ao desenvolvimento nas áreas de instrumentação e de radiofármacos, a MN passou a ser utilizada no diagnóstico de importantes doenças, como câncer, disfunções neurológicas e cardíacas (Faria *et al.*, 2011). É uma área que necessita de uma equipe multi e interdisciplinar composta por médicos, tecnólogos, biomédicos, físicos-médicos, radiofarmacêuticos e equipe de enfermagem treinada para o trabalho com fontes radioativas (Pozzo *et al.*, 2014).

### **3.4.1. Breve Histórico da utilização da radiação na saúde**

Em 1895, o físico alemão Roentgen descobriu o raio X ao utilizar descargas elétricas em seus experimentos, isso representou o primeiro passo para a descoberta da radioatividade, que ocorreu nos anos seguintes (Bushong, 2010). Em 1896, o físico francês Henri Becquerel, a partir das descobertas de Roentgen, buscou verificar a emissão de raios X por meio de pesquisas com elementos fluorescentes. Ao utilizar os sais de urânio, percebeu que esse elemento apresentava características semelhantes às dos raios X, com emissão de radiação ionizante de maneira espontânea, que atravessava materiais opacos e aparecia nos filmes fotográficos (Neubauer, 2013; Xavier *et al.*, 2007).

A polonesa Marya Sklodowska casou-se com Pierre Curie, passando a se chamar de Marie Curie. O casal Curie começou uma busca incessante para descobrir a origem das radiações observadas por Becquerel no minério de urânio. Busca essa que em 1898 culminou na descoberta de dois elementos radioativos: Polônio (Po) e o Rádio (Ra). Marie, por observar “certa agitação e vida própria” do rádio, definiu essa atividade como radioatividade (Mould, 2007; Xavier *et al.*, 2007).

Em 1900, pouco tempo após as descobertas de Becquerel, o físico neozelandês Ernest Rutherford e o físico francês Pierre Curie identificaram, de forma independente e quase simultaneamente, dois tipos distintos de emissões radioativas, as partículas ‘alfa’ ( $\alpha$ ) e beta ( $\beta$ ). No mesmo ano, o físico francês Paul U. Villard identificou a radiação gama ( $\gamma$ ), outra espécie de radiação eletromagnética também emitida pelos elementos radioativos (Xavier *et al.*, 2007).

Em 1903, o físico Rutherford propôs a existência do núcleo atômico. Em sequência, foi verificado que a radioatividade, é um fenômeno natural que ocorre em núcleos instáveis de alguns elementos químicos e, ocorre através da liberação ou transferência do excesso de energia, com a emissão de partículas  $\alpha$ ,  $\beta$  e radiação  $\gamma$  para buscar a estabilidade nuclear (Xavier *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2006; Ziessman *et al.*, 2015). Nos anos 20, Rutherford, na Inglaterra, W. D. Harkins, nos EUA, e Orme Masson, na Austrália, propuseram, de forma

independente, a possível existência de uma outra partícula, sem carga, que chamaram de “nêutron”, que resultaria da combinação de um elétron (negativo) e um próton (positivo). Em 1932, James Chadwick, na Inglaterra, comprovou a existência do nêutron, após irradiação de uma folha de berílio com partículas  $\alpha$ , oriundas do decaimento do polônio (Xavier *et al.*, 2007).

Em 1928, Paul Dirac previu de forma teórica a existência do próton, “o elétron positivo”, porém sendo comprovada somente em 1932 por C. D. Anderson, através de estudos das interações dos raios cósmicos em uma câmara de nuvens (“cloud chamber”), ele sugeriu o nome “pósitron” para esta nova entidade. O pósitron, similar às partículas  $\alpha$  e  $\beta$ , é encontrado nas desintegrações de radionuclídeos artificiais (Xavier *et al.*, 2007).

Em 1934, a filha do casal Curie, Irène Curie e o seu marido, Frédéric Joliot, descobriram a radioatividade artificial, através do bombardeamento de uma folha de alumínio com partículas alfa ( $\alpha$ ), observaram a criação de um novo radioisótopo, o fósforo-30. Com este experimento, demonstraram ser possível fabricar radioisótopos que não existem na natureza, através do bombardeamento de um núcleo estável (Xavier *et al.*, 2007).

Em 1941, na Washington University em St. Louis foi instalado o primeiro ciclotron para finalidades médicas, onde foram produzidos radioisótopos do fósforo, ferro, arsênio e enxofre. Após a II Guerra Mundial, foi realizado o desenvolvimento do processo de fissão nuclear e, esse fato possibilitou o uso em larga escala de radiofármacos na medicina (Leitha, 2009).

### 3.4.2. Noções de Radioatividade

Um nuclídeo é caracterizado pelo seu número atômico ( $Z$ ) e o seu número de massa ( $A$ ), cuja estabilidade é determinada pela relação entre o número de prótons e o número de nêutrons (Oliveira *et al.*, 2006; Garcez *et al.*, 2017). Os radionuclídeos são átomos que apresentam o núcleo instável, caracterizado por um “excesso de energia”. A busca pela estabilidade nuclear é feita através da emissão de radiação, processo chamado de decaimento radioativo e, ocorre através da emissão de partículas e/ou de energia, promovendo a transformação espontânea em outro elemento de maior estabilidade (Oliveira *et al.*, 2006; Novales *et al.*, 2014; Vermeulen *et al.*, 2019; Garcez *et al.*, 2017).

O decaimento radioativo no núcleo pode ocorrer com a emissão de diversos tipos de partículas como: alfa, beta e nêutrons (conhecida como partícula não carregada), assim como através de radiação eletromagnética. A partícula alfa é uma partícula pesada e é formada por dois prótons e dois nêutrons (caracterizado pela molécula de Hélio - He) e, possui alto poder de provocar ionizações ao interagir com o meio (Novales *et al.*, 2014; Vermeulen *et al.*, 2019; Garcez *et al.*, 2017).

A partícula beta é considerada uma partícula leve e possui pequeno poder de provocar ionização ao interagir com o meio. A partícula beta pode ser negativa - nêutrons ( $\beta^-$ ) ou positiva - pósitrons ( $\beta^+$ ). Os nêutrons ( $\beta^-$ ) possuem a mesma carga e massa de um elétron, porém apresenta denominação diferente do elétron para designar que sua origem é diferente, o elétron origina-se da eletrosfera do átomo, enquanto o nêutron, do núcleo atômico. Os pósitrons ( $\beta^+$ ) apresentam a mesma característica da partícula beta negativa, porém apresenta sinal contrário (Novales *et al.*, 2014; Vermeulen *et al.*, 2019; Garcez *et al.*, 2017).

A radiação ionizante com partículas não carregadas, tem como principal representante o nêutron. Os nêutrons possuem massa, mas não possuem carga elétrica, dessa forma são considerados partículas pesadas. Os nêutrons são partículas indiretamente ionizantes, eles não produzem ionização, mas ao interagir com o núcleo de isótopos estáveis, provoca a fissão e a ionização (Garcez *et al.*, 2017).

As radiações eletromagnéticas não possuem massa e nem carga elétrica, porém transportam energia. Essa radiação apresenta grande poder de penetração e baixo poder de ionização. As principais radiações eletromagnéticas são: radiação gama ( $\gamma$ ) e raios X (Garcez *et al.*, 2017; Tauhata *et al.*, 2014). A radiação gama é basicamente uma onda eletromagnética emitida pelo núcleo instável de radioisótopos, enquanto o raio X também são ondas eletromagnéticas, porém resultante de processos relacionados à eletrosfera dos átomos (Garcez *et al.*, 2017).

O decaimento radioativo espontâneo pode ser expresso em termos de meia-vida física. O tempo de meia-vida física ( $t_{1/2}$ ) é definido como o intervalo de tempo necessário para reduzir a atividade inicial de um radionuclídeo à metade, processo que ocorre independente das condições físico-químicas e é característico de cada radionuclídeo (Oliveira *et al.*, 2006; Xavier *et al.*, 2007; Novales *et al.*, 2014). É medido por atividade e é representada pelo número de desintegrações por segundo (dps) e sua unidade de medida, pode ser por Curie (Ci) ou Becquerel (Bq), sendo esta última a padrão no sistema Sistema Internacional de medidas (Oliveira *et al.*, 2006; Ziessman *et al.*, 2015).

### **3.4.3. Radiofármacos**

Radiofármacos são produtos farmacêuticos formados por um radioisótopo e um fármaco. O isótopo radioativo tem a característica de apresentar um núcleo instável emissor de radiação, já o fármaco pode ser uma substância, uma célula ou qualquer elemento que apresente afinidade química por determinados órgãos, tecidos ou processo fisiológico do corpo. E, são utilizados para transportar o elemento radioativo para o órgão de interesse (Novales *et al.*, 2014; Araújo *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2006; Luiz, 2011).



O radiofármaco apresenta a característica de se ligar ao sítio alvo e essa ligação pode ocorrer por diversos mecanismos como: perfusão sanguínea do composto pelos órgãos de interesse, ligação a receptores celulares específicos, assim como a participação em uma via metabólica ou processo bioquímico. Essas características dos radiofármacos permitem obter a imagem da estrutura anatômica, mesmo que de baixa resolução e, principalmente, a correlação funcional do órgão, possibilitando que a técnica diagnóstica da MN seja diferenciada das outras técnicas como a Ressonância Magnética ou Tomografia convencional (Araújo *et al.*, 2008).

Os radiofármacos podem ser classificados em quatro categorias:

- (1) Produtos radioativos prontos para uso;
- (2) Geradores de radionuclídeos;
- (3) Componentes não radioativos ou (reagentes liofilizados) utilizados para preparação de compostos marcados com elementos radioativos (geralmente o eluato de um gerador de radionuclídeo);
- (4) Precursores utilizados para marcação de outras substâncias antes da administração (ex. amostras provenientes dos pacientes, como células sanguíneas) (Araújo *et al.*, 2008; ANVISA, RDC 263, 2019).

#### **3.4.4. Radiofármacos Iodados**

No final dos anos 1940, foi utilizado pela primeira vez o iodeto de sódio (iodo-131) com a finalidade de estudar fisiologicamente a glândula tireoide e, desde então, o iodo radioativo ainda é comumente utilizado para realizar procedimentos tanto de diagnóstico quanto terapêutico de doenças benignas e malignas da tireoide (Silberstein *et al.*, 2012; Ziessman *et al.*, 2015). Com isso, o iodo-131 foi o primeiro radiofármaco de importância na MN clínica (Ziessman *et al.*, 2015).

O elemento iodo, radioativo ou não, entra na célula folicular da tireoide como iodeto, sendo transportado junto com o sódio por uma proteína transportadora de membrana - através do receptor NIS (Sales *et al.*, 2017; Bartel *et al.*, 2020). Em seguida é incorporado ao hormônio tireoidiano, constituindo um radiotraçador fisiológico ideal, fornecendo informação clinicamente pertinente relativa à função tireoidiana (Ziessman *et al.*, 2015; Cordeiro, 2013). Devido à rápida absorção gastrointestinal, captação e organificação do iodo, o radioiodo é detectável na glândula tireoide dentro de minutos, normalmente atingindo o lúmen folicular tireoidiano em cerca de 20 a 30 minutos após a ingestão oral (Sales *et al.*, 2017; Ziessman *et al.*, 2015).

Os radiofármacos à base de iodo são livres de carregadores, pois o método de produção não utiliza o mesmo elemento não radioativo. O iodo encontra-se na natureza sob

a forma de iodeto (ânion integrante de substâncias orgânicas e inorgânicas), sendo o iodo-127, o único isótopo natural. O iodo-127 pode gerar diversos isótopos radioativos que apresentam tempo de meia-vida física de frações de segundos a mais de 10 milhões de anos, como o iodo-129 (Catanoso, 2011).

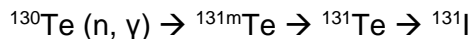
Alguns isótopos não são clinicamente utilizados devido às propriedades físicas desfavoráveis. Os dois radiofármacos mais utilizados clinicamente para obter informações da glândula tireoide são iodo-131 e o iodo-123, que possuem características de emissão radioativa diferentes, mas ambos são de administração via oral, podendo ser líquido ou em cápsula. Enquanto o iodo-123 apresenta em sua totalidade a radiação gama, o iodo-131 além da radiação gama apresenta partícula beta (Sales *et al.*, 2017; Ziessman *et al.*, 2015).

#### a. Radiofármaco IOD-IPEN-131

O iodo-131 foi o primeiro radiofármaco produzido no IPEN, marcando o início da MN no País, sendo até hoje bastante utilizado tanto para diagnóstico quanto para terapia (Sumiya, 2006).

O IOD-IPEN-131 é um radiofármaco à base de iodeto de sódio-131 ( $\text{Na}^{131}\text{I}$ ) e pode ser utilizado tanto no diagnóstico quanto no tratamento de doenças da tireoide (Catanoso, 2011). Atualmente, o radiofármaco pronto para uso mais produzido de iodo-131 é o metaiodobenzilguanidina que é utilizado para exames de disfunção do miocárdio (Sumiya, 2006).

O iodo-131 é um radionuclídeo que pode ser obtido tanto pelo processo de fissão do urânio ( $^{235}\text{U}$ ), em reator nuclear, como pela irradiação do átomo de telúrio ( $^{130}\text{Te}$ ) com nêutrons, através da reação (Catanoso, 2011):



Também podemos obter o iodo-131 em ciclotrons, através da reação  $^{130}\text{Te} (d,n) ^{131}\text{I}$  (Catanoso, 2011).

O iodo-131 apresenta meia-vida física de 8,1 dias, e decaimento por emissão de radiação gama ( $\gamma$ ) e beta ( $\beta^-$ ). O fóton gama ( $\gamma$ ) primário principal possui energia de 0,364 megaelétron-volts (MeV) (Silberstein *et al.*, 2012; Ziessman *et al.*, 2015), que não são adequadas para o sistema de detecção das gamas câmaras (Ziessman *et al.*, 2015). Apresenta decaimento por emissão de partícula ( $\beta^-$ ) ou nêutrons principal, com energia máxima de 0,61 MeV e uma energia média de 0,192 MeV, essas energias não podem ser visualizadas nas gamas câmaras, mas são valiosas para a realização do tratamento da tireoide (Silberstein *et al.*, 2012; Ziessman *et al.*, 2015; Sales *et al.*, 2017).

O IOD-IPEN-131 apresenta administração oral e é bastante utilizado na terapia para o tratamento de câncer diferenciado da tireoide, papilífero e folicular, hipertireoidismo ou bócio nodular não tóxico. O IOD-IPEN-131 também é utilizado em exames diagnósticos para detectar tecido tireoidiano funcional (Silberstein *et al.*, 2012; Ziessman *et al.*, 2015; Sales *et al.*, 2017; Bula IOD-IPEN-131).

#### **b. Radiofármaco IOD-IPEN-123**

O iodo-123 teve a sua produção iniciada nos anos 90 em virtude da necessidade de atender a área da MN brasileira e, a sua produção foi um marco importante para o IPEN do ponto de vista tecnológico e científico (Sumiya, 2006).

O IOD-IPEN-123 é um radiofármaco à base de iodeto de sódio-123 (iodo-123) bastante utilizado no diagnóstico e estudo da glândula tireoide através da técnica SPECT (Catanoso, 2011).

O iodo-123 é um radionuclídeo produzido em ciclotron e, na literatura são descritos diversos métodos para a obtenção desse radionuclídeo. O método direto utiliza reações nucleares com prótons (p), dêuterons (d), hélio-3 ( $^3\text{He}$ ) e alfa ( $\alpha$ ), induzindo a formação do radionuclídeo iodo-123. Nessas reações diretas podemos utilizar substâncias como: Telúrio enriquecido (Te), Antimônio (Sb) e Xenônio (Xe) (Sumiya, 2006; Catanoso, 2011). As reações estão descritas a seguir:

- $^{123}\text{Te} (p, n) \rightarrow ^{123}\text{I}$
- $^{122}\text{Te} (d, n) \rightarrow ^{123}\text{I}$
- $^{121, 123}\text{Sb} (^3\text{He}, xn) \rightarrow ^{123}\text{I}$
- $^{121}\text{Sb} (\alpha, 2n) \rightarrow ^{123}\text{I}$
- $^{123}\text{Sb} (\alpha, 4n) \rightarrow ^{123}\text{I}$
- $^{124}\text{Te} (p, 2n) \rightarrow ^{123}\text{I}$
- $^{124}\text{Xe} (p, 2p) \rightarrow ^{123}\text{I}$

Pelo método indireto, a produção se dá pelas reações nucleares que resultam em um radionuclídeo precursor e, o decaimento radioativo leva à produção do iodo-123. São utilizados ciclotrons de média e alta energia, permitindo a obtenção de iodo-123 livre de outros radioisótopos de iodo, através do decaimento do  $^{123}\text{Xe}$  ( $t_{1/2}=2,08$  horas), de acordo com a reação (Catanoso, 2011; Sumiya, 2006):

- $^{122}\text{Te} (^3\text{He}, 2n) ^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$  – com partículas  $^3\text{He}$  de energia de 20 a 30 MeV;
- $^{122}\text{Te} (\alpha, 3n) ^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$  - com partículas  $\alpha$  de energia de 42 a 46 MeV;

- $^{123}\text{Te} (^3\text{He}, 3n) ^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$  - com partículas  $^3\text{He}$  de energia de 25 MeV;
- $^{127}\text{I} (\text{p}, 5n) ^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$  – com prótons de energia de 60 a 70 MeV;
- $^{124}\text{Xe} (\text{p}, 2n) ^{123}\text{Cs} \rightarrow ^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$  - com prótons de energia maior que 24 MeV.

O iodo-123 possui meia-vida física de 13,2 horas e decaimento ocorre através de captura eletrônica (CE) com dois fótons principais de raios gama de 0,28 MeV e 0,159 MeV (Ziessman *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2012). A emissão de energia de 0,159 MeV dos raios gamas é adequada para usos em gama câmaras. Outro ponto importante é que o raio gama penetra no tecido de forma eficaz, dessa forma não há a necessidade de expor o paciente a uma dose excessiva de radiação (Ziessman *et al.*, 2015; Bula IOD-IPEN-123).

O iodo-123 vem aumentando a demanda na prática clínica como radioisótopo para diagnóstico e, com isso está se tornando o agente de escolha para a maioria das imagens tireoidianas, principalmente em crianças, devido a sua meia-vida física mais curta que o iodo-131, permitindo diagnóstico precoce e mais preciso, por oferecer melhor nitidez na imagem com uma menor dose de radiação (Luiz *et al.*, 2011). O IOD-IPEN-123 apresenta administração oral, utilizado na cintilografia da tireoide e nos estudos da captação funcional da glândula tireoide (Ziessman *et al.*, 2015; Bula IOD-IPEN-123).

É válido lembrar que a reação nuclear  $^{124}\text{Xe} (\text{p}, \text{pn}) ^{123}\text{Xe}$  pode ocorrer durante a irradiação, mas seus efeitos são desprezíveis devido a uma maior quantidade de choque na reação com  $(\text{p}, 2n)$ . A produção de iodo-123 por meio da reação  $(\text{p}, 2n)$  sobre alvos de  $^{124}\text{Te}$  enriquecido, é contaminado com a presença de  $^{124}\text{I}$ . Com isso, a produção de iodo-123 através da irradiação do telúrio foi gradualmente substituída pela reação do xenônio, e dessa forma trazendo imagens mais claras e uma menor dose de radiação para o paciente (Oliveira, 2009).

A obtenção de iodo-123 através de métodos indiretos apresenta altíssima pureza radioquímica (99,9%) quando comparados aos métodos diretos de produção. No IPEN, o iodo-123 é atualmente produzido em ciclotron (Cyclone-30) através do método indireto, com prótons acelerados sobre o alvo de  $^{124}\text{Xe}$  enriquecido. Essa forma de obtenção traz a vantagem de produzir o iodo-123 com pureza radioquímica elevada, através da reação nuclear:  $^{124}\text{Xe} (\text{p}, 2n) ^{123}\text{Cs} \rightarrow ^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$  (Oliveira, 2009), e permite produção comercial em virtude de sua eficiência (Sumiya, 2006).

### c. Outros Radiofármacos Iodados

O iodo-124 inicialmente era considerado uma impureza radionuclídica da solução do iodo-123 obtida a partir do telúrio, o que resultava em um aumento de dose de radiação para o paciente e uma degradação da qualidade da imagem devido às características físicas como emissão de pósitrons e elevada energia gama (Catanoso, 2011).

Atualmente o iodo-124 apresenta grande interesse para a classe médica, é preferencialmente produzido em cíclotrons de baixa energia, a partir do Te-124, o que proporciona elevados graus de pureza; possui um decaimento radioativo com emissão de pósitrons ( $\beta^+$ ) com um tempo de meia-vida física de 4,2 dias e raios  $\gamma$  de várias energias, possibilitando a utilização em PET (Saha, 2010, Ziessman *et al.*, 2015).

A utilização do iodo-124 proporciona a administração de doses mais seguras e efetivas para confirmar e reavaliar o estadiamento tumoral e visualizar a presença de metástases no PET-CT, porém apresenta como desvantagem o custo elevado (Saha, 2010, Ziessman *et al.*, 2015).

O iodo-125 é obtido através do Xe-124 e dá origem ao Xe-125 que decai com emissão de partícula  $\beta$  dando origem ao isótopo iodo-125; apresenta tempo de meia-vida física de 59,4 dias e decaimento por captura eletrônica, com emissão de fótons  $\gamma$  de energia de 0,0355 MeV (Saha, 2010, Ziessman *et al.*, 2015).

O longo tempo de meia-vida física permite que seja utilizado na produção de compostos radiomarcados para procedimento *in vivo*, testes bioquímicos e alguns ensaios radioimunológicos. É utilizado na terapia do câncer de próstata como fonte selada em braquiterapia (radioterapia interna) sob forma de implante (Saha, 2010, Ziessman *et al.*, 2015).

### **3.4.5. Medicina Nuclear Terapêutica**

A MN Terapêutica baseia na capacidade do radioisótopo utilizado de entregar alta dose radioativa ao tecido doente, com isso a energia emitida interage com as células cancerosas, que pode ser um órgão ou alguma região específica de interesse, com a finalidade de tratar a patologia (Garcez *et al.*, 2017; Sales *et al.*, 2017).

Os radiofármacos utilizados na terapia normalmente apresentam a emissão de partículas  $\alpha$  ou  $\beta$ , com energia para promover a destruição de células tumorais de forma seletiva (Araújo *et al.*, 2008; Ferreira *et al.*, 2011; Novales *et al.*, 2014). Por isso, se faz necessário para o tratamento, que a penetração da radiação deve ser relativamente curta para evitar efeitos secundários, como a irradiação de tecidos saudáveis situados ao redor do tecido doente (Araújo *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2006).

Um exemplo são radiofármacos produzidos com o radioisótopo iodo-131, utilizado no tratamento de patologias da tireoide, como o hipertireoidismo, assim como em doses ablativas e terapêuticas para o carcinoma diferenciado de tireoide; e o samário-153 utilizado para o tratamento de dores ósseas (Garcez *et al.*, 2017; Sales *et al.*, 2017).

Outros radiofármacos vêm ganhando importância na MN, o lutécio-177 e o actínio-225. O lutécio-177 apresenta emissão de partícula beta ( $\beta^-$ ) com energia de 0,4983 MeV associado a emissão de radiação  $\gamma$ , e quando complexados a reagentes específicos

DOTATATO (DOTA-Tyr3- octreotato) e PSMA (prostate specific membrane antigen) são ideais para o tratamento de tumores neuroendócrinos e de próstata, respectivamente (Agüero *et al.*, 2021). O actínio-225 apresenta emissão de partícula  $\alpha$  e apresenta alcance reduzido dentro do tecido, o que causa danos às organelas e ao DNA. Vários estudos têm sido conduzidos principalmente nos EUA e na Europa para tratamento de câncer prostático quando ligado ao PSMA (Novruzova *et al.*, 2019).

### 3.4.6. Medicina Nuclear Diagnóstica

A MN diagnóstica utiliza a radiação ionizante emitida pelos radiofármacos com a finalidade de visualizar a anatomia de um órgão ou sistema, avaliar o comportamento fisiológico nos tecidos, analisar o comportamento bioquímico através do seu metabolismo, assim como determinar quantitativamente seus parâmetros farmacocinéticos (Novales *et al.*, 2014; Araújo *et al.*, 2008).

Os radiofármacos utilizados possuem radionuclídeos emissores de radiação gama ( $\gamma$ ) ou (pósitrons -  $\beta^+$ ); e, a sequência inicia-se com a administração do radiofármaco específico ao paciente (via oral, intravenosa, subcutânea ou inalatória), logo o radiofármaco será metabolizado e as substâncias radioativas serão acumuladas em tecidos específicos, que varia de acordo com o estudo de interesse. Decorrido o tempo de espera, o paciente é encaminhado à sala de exames onde as áreas de interesse do corpo serão “escaneadas” por um detector de radiação, o sistema mais utilizado é a gama câmara. Assim, as informações obtidas pelo detector são processadas por um sistema de amplificação de sinal e tratamento para obtenção de imagens (Garcez *et al.*, 2017; Sales *et al.*, 2017).

As imagens na MN podem ser obtidas por duas técnicas: SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) e o PET (Positron Emission Tomography), permitindo avaliar além da função, a morfologia do órgão (Oliveira *et al.*, 2006).

#### a. SPECT

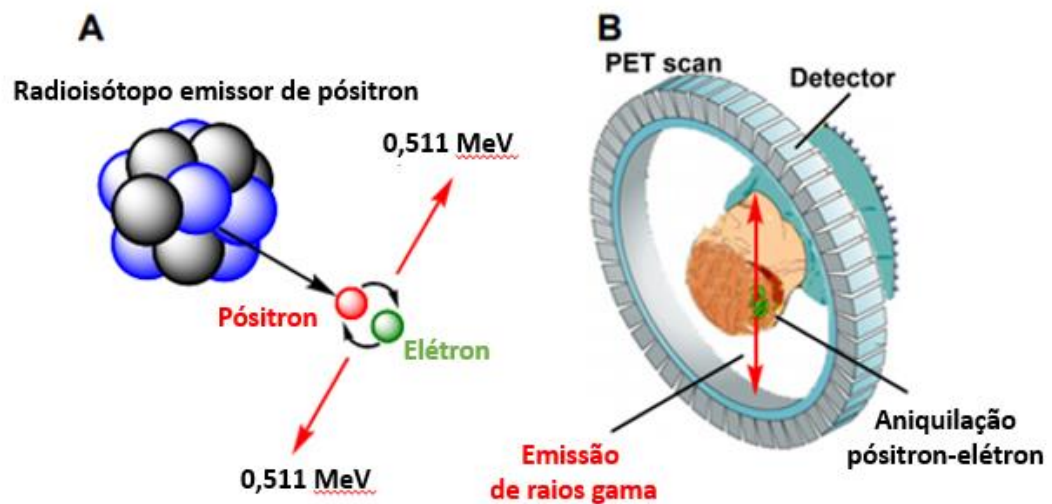
A técnica SPECT é uma forma de Tomografia Computadorizada baseada na interação da radiação gama presente nos radionuclídeos dos radiofármacos com os cristais de iodeto de sódio, que associados a sistemas de aquisição e amplificação de sinais e softwares, permite a obtenção de imagem em diversos planos anatômicos com consequente visualização da distribuição do radiofármaco nos tecidos e no corpo do paciente (Barros *et al.*, 2015, Oliveira *et al.*, 2006; Ziessman *et al.*, 2015; Vermeulen *et al.*, 2019).

## b. PET

A tomografia por emissão de pósitrons (PET) é uma técnica de imagem desenvolvida na década de 1970, não invasiva, com excelente resolução e alta sensibilidade. Os radiofármacos utilizados no PET apresentam em sua composição radionuclídeos que promovem a emissão de pósitrons. Os pósitrons reagem de modo instantâneo com elétrons, processo chamado de aniquilação pósitron-elétron e emitem dois fótons  $\gamma$ , cada um com energia de 0,511 MeV, na mesma direção, mas com sentidos opostos, que são detectados externamente num detector circular, originando imagens tridimensionais (Vermeulen *et al.*, 2019; Garcez *et al.*, 2017; Ziessman *et al.*, 2015).

Ao contrário das imagens através de SPECT, que detecta eventos únicos, nas imagens de PET, são usados detectores múltiplos distribuídos ao longo do aparelho para detectar os fótons pareados decorrentes da aniquilação, conforme Figura 3 (Ziessman *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2006; Vermeulen *et al.*, 2019; Garcez *et al.*, 2017).

**Figura 3** - O encontro de um pósitron e um elétron promove aniquilação e produção de dois fótons de 0,511 MeV (A). O momento em que o fóton de 0,511 MeV é registrado pelo detector circular de raios gama da câmara PET (B).



Fonte: Adaptada de Li; Conti, 2010.

### 3.4.7. Captação Tireoidiana e Cintilografia da Tireoide

Os estudos clínicos de captação de radioiodo pela tireoide e as cintilografias da tireoide são exames complementares e normalmente realizados em associação, uma vez que

são realizados com aparelhos diferentes e, conseqüentemente, proporcionam informações diferentes (Ziessman *et al.*, 2015).

#### **a. Captação Tireoidiana**

A captação tireoidiana apresenta a finalidade de calcular o percentual de captação de iodo radioativo pela glândula tireoide, dessa forma tanto o iodo-131 quanto o iodo-123 podem ser utilizados. Para estudos de captação tireoidiana utiliza-se uma sonda (probe), um detector de cintilação gama, que não gera imagens. A probe possui um cristal de iodeto de sódio capaz de detectar a radiação gama emitida pelo paciente após a administração do radiofármaco (Ziessman *et al.*, 2015).

O percentual de captação é geralmente realizado 24 horas após a administração do radiofármaco e a indicação clínica mais comum para o percentual de captação é o diagnóstico diferencial de tireotoxicose. É utilizada também para o cálculo da dose terapêutica de iodo-131 para pacientes com a doença de Graves, cintilografia de corpo inteiro para o câncer de tireoide, avaliação pré-terapia com iodo-131 da extensão da doença, estimativa de efetividade da terapia com iodo-131 e para acompanhamento de recidiva (Ziessman *et al.*, 2015).

#### **b. Cintilografia de Tireoide**

As imagens geradas na MN, a partir da detecção de cintilações, são comumente chamadas de cintilografias (Garcez *et al.*, 2017) e, estão baseados na propriedade que certas substâncias possuem, de produzir uma cintilação, como resultado da interação com a radiação ionizante. Essas imagens são obtidas através da técnica SPECT (Garcez *et al.*, 2017; Bartel *et al.*, 2020).

A cintilografia de tireoide é um exame para diagnóstico clínico que fornece informações funcionais, proporciona análise morfológica e a avaliação da captação difusa da tireoide (Vieira *et al.*, 2011; Ziessman *et al.*, 2015). Dessa forma, a técnica SPECT é a representação mais verossímil da distribuição da radiação projetada do paciente, em diversos ângulos nos planos cintilográficos, tornando possível a construção de imagens 3D ou imagens tomográficas (Garcez *et al.*, 2017).

A principal indicação da cintilografia é na suspeita de adenoma folicular hiperfuncionante (nódulo quente), assim como a detecção da presença e localização de qualquer câncer diferenciado da tireoide, seja recorrente ou metastático (Maia *et al.*, 2013; Sales *et al.*, 2017; Rosário *et al.*, 2013; Vieira *et al.*, 2011; Bartel *et al.*, 2020). As cintilografias tireoidianas também podem auxiliar na diferenciação de um Bócio Difuso Tóxico (Doença de Graves) para um Bócio Multinodular Tóxico (BMNT) (Ziessman *et al.*, 2015), porém apresenta



indicações limitadas na avaliação do hipertireoidismo (Maia *et al.*, 2013; Sales *et al.*, 2017; Rosário *et al.*, 2013; Vieira *et al.*, 2011).

As gamas câmaras dos aparelhos SPECTs contêm detectores de cintilação que são constituídos por cristais especiais que ao serem expostos à radiação ionizante, emitem luz visível ou ultravioleta. A radiação ionizante ao interagir com os cristais, pode ceder energia para seus elétrons, promovendo o deslocamento dentro da estrutura cristalina, processo chamado de excitação. Entretanto, estes elétrons naturalmente tendem a retornar para sua posição original e, neste processo de retorno ao estado fundamental, emitem o excedente de energia adquirido, na forma de luz, esse processo de emissão de luz é denominado cintilação ou luminescência e, é detectado pelos tubos fotomultiplicadores presentes nos aparelhos SPECT. A luz detectada pelos fotomultiplicadores é transformada numa corrente elétrica que é amplificada e enviada para o sistema de leitura da imagem em uma tela de computador. Desta forma, a quantidade de cintilações emitidas está associada com a quantidade de interações da radiação ionizante com o cristal (Garcez *et al.*, 2017; Bartel *et al.*, 2020).

A cintilografia da tireoide pode ser realizada utilizando os seguintes tipos de radiomarcadores: Tc-99m, iodo-131, iodo-123 e o iodo-124 (Sales *et al.*, 2017; Rosário *et al.*, 2013). O tecnécio-99m é um marcador barato, com meia-vida física curta, aproximadamente 6 horas, é captado pelo mesmo receptor que capta o iodo na tireoide, o NIS. O Tc-99m emite radiação gama de 0,140 MeV, ideal para formar imagem, e dessa forma a cintilografia com Tc-99m consegue mostrar a imagem da glândula tireoide, com maior resolução e menos efeitos 'borrados' enquanto o cálculo de captação é realizado com iodo-131 ou iodo-123. A cintilografia da tireoide com o iodo-131 promove a emissão de radiação gama e da partícula beta, que nas doses usualmente utilizadas ioniza e destrói os tecidos circundantes, dessa forma a imagem se apresenta ruim e um pouco atordoada (borrada) (Sales *et al.*, 2017). Devido à elevada dose de radiação para a tireoide proveniente do iodo-131, as indicações clínicas são limitadas à cintilografia de corpo inteiro para o câncer tireoidiano, após a remoção cirúrgica da glândula tireoide (Ziessman *et al.* 2015).

Para a realização da cintilografia de tireoide, o iodo-123 é preferível (Ziessman *et al.* 2015), considerando-se a radiação gama de energia 0,159 MeV ser mais adequada para a gama câmara SPECT, resultando melhor qualidade da imagem, maior sensibilidade, acrescidos pela falta de atordoamento e, por fim, menor dosimetria em relação ao iodo-131 (Ziessman *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2012).

### **3.5. Produção de Radiofármacos**

Os radionuclídeos utilizados na MN, tanto para diagnóstico quanto para terapia são de origem artificial (Tauhata *et al.*, 2013; Oliveira *et al.*, 2006) e sua produção para uso na

medicina se deu a partir da invenção de acelerador de partículas - ciclotron, por Ernest O. Lawrence e M. Stanley Livingstone, em 1929, fato que possibilitou uma maior produção de radionuclídeos artificiais e, conseqüentemente, uma maior disponibilidade para a utilização de radionuclídeos em diagnóstico médico. Porém a disponibilidade dessa produção ainda era insuficiente para o uso, em larga escala na medicina. Foi na Segunda Guerra Mundial que se obteve um aumento na produção de radionuclídeos artificiais, por meio da construção dos primeiros reatores nucleares, Oak Ridge (Estados Unidos) em 1946 e, o de Harwell (Reino Unido), em 1947 (Tauhata *et al.*, 2014).

O acelerador de partícula são máquinas capazes de acelerar feixes de partículas carregadas, com a finalidade de alcançar velocidades altíssimas proporcionando energias capazes de produzir matéria (através de colisão destes feixes) em grande quantidade e com feixe bem controlado (Luiz *et al.*, 2011). Os ciclotrons utilizam a energia elétrica como fonte energética para acelerar as partículas e gerar radiação, os principais dispositivos são os aceleradores de elétrons, os aceleradores Van de Graaff e os ciclotrons. Os ciclotrons são aceleradores circulares e ganharam grande importância nos últimos anos pela sua capacidade de produção de radionuclídeos de meia-vida física curta para uso na MN diagnóstica (Tauhata *et al.*, 2013), assim como a produção de radionuclídeos com meia vida física mais longa como o  $^{124}\text{I}$ ,  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ , com 4,2 dias, 3,3 dias e 78,3 horas, respectivamente (Toyokuni *et al.*, 2004).

No reator nuclear, nêutrons promovem o bombardeamento de certos isótopos de Urânio ou do Plutônio ( $^{238}\text{U}$  e  $^{239}\text{Pu}$ ) fazendo com que o núcleo se divida em dois núcleos menores por um processo denominado de fissão nuclear, liberando energia, além de dois ou mais nêutrons, estes podem atingir outros núcleos de Urânio ou Plutônio, causando divisão e liberando outros nêutrons e, assim, sucessivamente, levando a reação em cadeia. Estes materiais passam por processos de irradiação e de purificação até obter o radionuclídeo purificado, que é utilizado como precursor do radiofármaco (Oliveira *et al.*, 2006; Tauhata *et al.*, 2013).

Os geradores de radionuclídeos, são sistemas constituídos por uma coluna de alumina, ou por uma resina de troca iônica, na qual se incorpora o radionuclídeo “pai” de tempo de meia-vida física longo e, por decaimento produz o radionuclídeo “filho” que é separado através de um eluente adequado, processo chamado de eluição, produzindo dessa forma uma substância radiofarmacêutica e pode ser utilizado diretamente em aplicações clínicas ou pode servir para preparar radiofármacos mais complexos (Oliveira *et al.*, 2006; Ziessman *et al.*, 2015).

O Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) foi a instituição pioneira na produção de radioisótopos e radiofármacos no Brasil e, tem sido responsável pelo crescimento da MN no país (Araújo *et al.*, 2008; Ipen, 2020). O IPEN é uma autarquia estadual,

vinculada à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico do Governo do Estado de São Paulo, gerida técnica e administrativamente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) do Ministério da Ciência e Tecnologia. O IPEN está instalado no campus da Cidade Universitária em São Paulo e é ligado à Universidade de São Paulo por seu programa de pós-graduação *strictu sensu* vinculado à USP e o mais novo programa de Mestrado Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde (IPEN, 2020).

Os radiofármacos, no Brasil, foram isentos de regulamentação farmacêutica adequada por bastante tempo (Tavares *et al.*, 2015; Faria *et al.*, 2011). Somente em 2008, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou resoluções para a produção de radiofármacos. A RDC pioneira sobre MN é a de nº 38/08, que estabeleceu os requisitos e parâmetros de controle sanitário para a instalação e o funcionamento de Serviços de MN *in vivo*, visando à defesa da saúde dos pacientes, dos profissionais envolvidos e do público em geral. Na sequência, foram publicadas as RDC nº 63/2009, RDC nº 64/2009 e em 2019, para o registro de medicamentos radiofármacos de uso consagrado fabricados em território nacional, foi publicada a RDC nº 263/2019 (ANVISA, RDC 38, 2008; ANVISA, RDC 263, 2019).

### **3.6. Garantia de Qualidade**

Preparações farmacêuticas contendo elementos radioativos, os radiofármacos, apresentam prazo de validade curto, que pode variar de poucos minutos a alguns dias, isso ocorre devido ao tempo de meia-vida física específica do radionuclídeo e, também pela estabilidade da ligação (Araújo *et al.*, 2008).

Dessa forma, os radiofármacos são liberados e administrados aos pacientes pouco tempo após sua produção, por isso, os resultados de certos ensaios de controle de qualidade são retrospectivos. Por isso, um sistema de Garantia da Qualidade implantado é essencial na fabricação de produtos radioativos (Araújo *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2006).

A Garantia deve certificar que estão sendo cumpridos todos os aspectos das BPF na produção de radiofármacos antes que o produto chegue a ser administrado no paciente. Dessa forma, é de extrema importância que o radiofármaco seja produzido em condições adequadas garantindo que o medicamento esteja dentro dos padrões de qualidade exigidos e que possa ser utilizado com segurança pelo paciente (Araújo *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2006).

Garantia da qualidade é responsável pela autorização de procedimentos, monitoramento e o controle dos ambientes de fabricação, higiene das instalações, validação de processos, treinamentos, aprovação e monitoramentos (de fornecedores de materiais, fabricantes e condições de armazenamento de materiais e produtos), retenção de registros,

assim como de monitoramento do cumprimento dos requisitos das Boas Práticas de Fabricação, entre outros (ANVISA, RDC 658, 2022).

### **3.6.1. Boas Práticas de Fabricação**

Visando eliminar riscos envolvidos na produção de medicamentos, a ANVISA estabelece que os radiofármacos sejam produzidos de acordo com as Boas Práticas de Fabricação (BPF), um sistema designado para garantir que os fármacos sejam consistentemente produzidos e controlados de acordo com padrões de qualidade (Araújo *et al.*, 2008; ANVISA, RDC 658, 2022 e IN 128, 2022).

A RDC 658 de 30 de março de 2022, dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (ANVISA, RDC 658, 2022) e a IN 128 em 30 de março de 2022, dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares a Medicamentos Radiofármacos. Diante das legislações o cumprimento das BPF é necessário a fim de que sejam obtidos produtos com a qualidade exigida e em conformidade com as respectivas autorizações de fabricação e com o registro. Com isso, o cumprimento das BPF visa minimizar os riscos potenciais da produção farmacêutica, que não podem ser detectados com a análise do produto final: contaminação cruzada, contaminação com material particulado ou alteração ou mistura de produtos (Araújo *et al.*, 2008; ANVISA, RDC 658, 2022 e IN 128, 2022).

### **3.6.2. Controle de Qualidade**

No processo de produção de qualquer medicamento, o ensaio de controle de qualidade (CQ) é a parte das BPF referente à amostragem, especificações, ensaios, procedimentos de organização, documentação e procedimentos de liberação que asseguram que os ensaios necessários e relevantes sejam executados e que os materiais não sejam liberados para uso, nem os produtos liberados para venda ou fornecimento até que a qualidade do produto seja julgada satisfatória. Esses ensaios são de grande importância, devendo ser realizado na rotina, assegurando que todo lote liberado atenda às especificações preestabelecidas, sendo um atributo de caráter sanitário, comercial, mas também ético, legal e moral (Gil, 2007).

Assim como ocorre para um medicamento não radioativo, para um radiofármaco ser comercializado, ele deve passar por testes de controle de qualidade para assegurar sua qualidade. O controle de qualidade envolve testes específicos e medidas que garantem sua pureza, potência, identidade, segurança biológica e eficácia; ou seja, todos os procedimentos aplicados aos fármacos devem ser aplicados aos radiofármacos; porém, também devem ser

realizados os testes para verificar sua pureza radionuclídica e radioquímica (Andrade *et al.*, 2011).

### 3.7. Pureza Radioquímica e Cromatografia

A pureza radioquímica é definida como razão percentual de radioatividade do radionuclídeo de interesse no seu estado químico indicado, em relação à radioatividade total da preparação radiofarmacêutica (Saha, 2010; ANVISA, Farmacopeia Brasileira, 2019; Ziessman *et al.*, 2015). A determinação da pureza radioquímica é realizada através da separação das substâncias químicas diferentes, a qual contém o radionuclídeo (ANVISA, Farmacopeia Brasileira, 2019; Ziessman *et al.*, 2015) e quantificação das impurezas radioquímicas com detector de radiação adequado (Farmacopeia Brasileira, 2019).

As impurezas radioquímicas surgem a partir da decomposição dos radiofármacos, podendo ocorrer devido à ação de mudança de temperatura, pH, luz, presença de oxidantes ou agentes redutores, reação incompleta e radiólise. A presença de impurezas radioquímicas nas preparações radiofarmacêuticas pode promover problemas na biodistribuição do radiofármaco, conseqüentemente prejudicando a qualidade da imagem e assim, podendo desencadear um diagnóstico impreciso e, aumentando também a exposição de alguns órgãos à radiação desnecessária (Oliveira *et al.*, 2006; Andrade *et al.*, 2011; Saha, 2010).

Na determinação da pureza radioquímica são usados métodos analíticos de separação, tais como métodos cromatográficos (cromatografia em papel, em camada delgada, de exclusão molecular, cromatografia gasosa ou cromatografia a líquido de alta eficiência - CLAE), eletroforese e extração por solventes (Oliveira *et al.*, 2006; Andrade *et al.*, 2011; ANVISA, Farmacopeia, 2019).

A cromatografia é um método físico-químico utilizado com a finalidade de realizar a separação e a identificação das substâncias ou componentes da mistura. O processo de separação é efetuado através da distribuição dos componentes dessa mistura em duas fases, que estão em contato, cuja fundamentação é dada pela migração diferencial dos componentes de uma mistura, na qual uma se move (fase móvel) através da outra (fase estacionária), ocorrendo por diferença de afinidade. Com isso os componentes mais fortemente retidos na fase estacionária movem-se de forma mais lenta, enquanto os componentes que se ligam mais fracamente à fase estacionária movem-se mais rapidamente (ANVISA, Farmacopeia, 2019; Collins *et al.*, 2010; Saha, 2010). Durante a migração da fase móvel através da fase estacionária, os componentes se distribuem seletivamente entre essas fases, resultando em migrações diferenciais. O desenvolvimento pode ser ascendente, no caso de solvente carregado para cima através de forças capilares, ou descendente, no caso em que o fluxo do solvente é auxiliado por força da gravidade (ANVISA, Farmacopeia, 2019).

A análise é feita através do fator de retardamento ( $R_f$ ), sendo definido pela relação da distância percorrida por cada componente da amostra e a distância percorrida pela fase móvel (ANVISA, Farmacopeia, 2019; Collins *et al.*, 2010).

A técnica da cromatografia em papel se baseia em adsorção, sendo o adsorvente ou a fase estacionária uma camada de papel filtro de qualidade especial, apresentando textura e espessura adequadas, a fase móvel pode ser um solvente puro ou uma mistura de solventes. O mecanismo de separação primária é o de partição, onde a celulose torna-se suporte da água adsorvida. Na prática, os papéis cromatográficos mais utilizados são: o Whatman 1 (W1) e o Whatman 3MM (W3MM), que são mais polares. O W3MM apresenta algumas vantagens em relação ao W1, como maior resistência mecânica aos solventes aquosos, evitando que a fita rasgue ou despedace facilmente e, permite a absorção de uma quantidade de amostra com menor espalhamento (Saha, 2010).

Após a corrida cromatográfica em papel ou em camada delgada, a fase estacionária é posta para secar em estufa e as posições das áreas radioativas são detectadas ou pela autorradiografia ou pela medida da radioatividade ao longo do cromatograma, com auxílio de contadores devidamente colimados, ou pelo corte das fitas e contagem de cada porção (ANVISA, Farmacopeia, 2019).

O método de cromatografia em papel, por ser uma técnica de baixo custo e de fácil manuseio, é aplicado rotineiramente em radiofarmácias na MN para a verificação do grau de pureza radioquímica e da eficiência de radiomarcagem dos compostos. A grande variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias a torna uma técnica extremamente versátil e de grande aplicação (Andrade *et al.*, 2011). A Farmacopeia Europeia estabelece que mais de 95% depende do produto da atividade deverá corresponder à forma química desejada de iodo-123 (Oliveira *et al.*, 2006; Andrade *et al.*, 2011; ANVISA, Farmacopeia, 2019), e a impureza radioquímica não pode exceder 5% da radioatividade total da solução (Farmacopeia Europeia, 2010).

### **3.8. Validação de Método Analítico**

Os radiofármacos apresentam a particularidade de serem liberados antes da conclusão dos ensaios de controle de qualidade e, por isso as validações constituem atividades essenciais para garantia de qualidade (Araújo *et al.*, 2008; ANVISA, RDC 166, 2017).

O Plano Mestre de Validação (PMV) é um primeiro passo para a realização de um programa de validação, sendo o documento que direciona a validação, estabelece prioridades, responsabilidades por atividades e cronogramas. O PMV é redigido através de

outros documentos existentes, apresenta os critérios gerais de aceitação e, deve conter a qualificação (ANVISA, RDC 166, 2017).

Validação analítica é a avaliação sistemática de um método por meio de ensaios experimentais de modo a confirmar e fornecer evidências objetivas de que os requisitos específicos para seu uso pretendido são atendidos. A validação deve demonstrar que o método analítico produz resultados confiáveis e é adequado à finalidade a que se destina, de forma documentada e mediante critérios objetivos. A utilização de método analítico não descrito em compêndio oficial reconhecido pela ANVISA requer a realização de uma validação analítica, conforme parâmetros estabelecidos nesta resolução, levando-se em consideração as condições técnico-operacionais. Os parâmetros típicos a serem considerados para a validação são exatidão, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, intervalo ou faixa de trabalho e robustez, porém dependem do ensaio a ser realizado e devem estar de acordo com a RDC nº 166/2017 da ANVISA.

A seletividade do método deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de identificar ou quantificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de componentes que podem estar presentes na amostra, como impurezas, diluentes e componentes da matriz. No caso de métodos cromatográficos, deve ser comprovada a pureza cromatográfica do sinal do analito (exceto para produtos biológicos). No caso da validação do método de pureza radioquímica, por ser um método quantitativo, a seletividade deve ser demonstrada por meio da comprovação de que a resposta analítica se deve exclusivamente ao analito, sem interferência do diluente, da matriz, de impurezas ou de produtos de degradação (ANVISA, RDC 166, 2017).

O ensaio da exatidão de um método é obtido pelo grau de proximidade entre os resultados do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro. Dessa forma, a exatidão deve ser verificada a partir de 9 determinações (no mínimo), contemplando o intervalo linear do método analítico, em três concentrações (baixa, média e alta), com 3 réplicas de cada. As amostras da exatidão devem ser preparadas de maneira independente (ANVISA, RDC 166, 2017).

O ensaio da precisão deve ser expresso por meio da repetibilidade, da precisão intermediária ou da reprodutibilidade, sendo relacionada quantitativamente em termos da característica da dispersão dos resultados e pode ser determinada por meio da análise de padrões ou materiais de referência, em várias concentrações na faixa de trabalho. Para a determinação da repetibilidade a RDC 166 de 24 de julho de 2017, determina a avaliação das amostras sob as mesmas condições de operação, mesmo analista e mesma instrumentação em uma única corrida analítica. Para a determinação da precisão intermediária o estudo será conduzido por um analista diferente do responsável pela execução do ensaio de

Repetibilidade e, as amostras devem ser preparadas de maneira independente (ANVISA, RDC 166, 2017).

O ensaio da linearidade de um método deve ser demonstrado por meio da sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra. Para o estabelecimento da linearidade, deve-se utilizar, no mínimo, 5 (cinco) concentrações diferentes, para as soluções preparadas em triplicata e, preparadas de maneira independente, podendo ser utilizadas soluções diluídas de uma mesma solução mãe. A precisão deve avaliar a proximidade entre os resultados obtidos por meio de ensaios com amostras preparadas conforme descrito no método analítico a ser validado (ANVISA, RDC 166, 2017).

O intervalo ou faixa de trabalho deve ser estabelecida a partir dos estudos de linearidade, juntamente com os resultados de precisão e exatidão, sendo dependente da aplicação pretendida. O objetivo deste ensaio é determinar os percentuais de teor do analito que devem estar contidos no intervalo de linearidade, confirmando que o método apresenta precisão e linearidade adequados quando aplicados a amostras contendo quantidades de substâncias dentro do intervalo especificado (ANVISA, RDC 166, 2017).

Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra se pode detectar, mas não necessariamente quantificar nas condições experimentais estabelecidas. A determinação do limite de detecção pode ser realizada por meio de método visual, da razão sinal-ruído, baseado na determinação do branco ou em parâmetros da curva de calibração, considerando-se as particularidades do método analítico utilizado (ANVISA, RDC 166, 2017).

Limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. O limite de quantificação deve ser coerente com o limite de especificação da impureza (ANVISA, RDC 166, 2017).

O ensaio da robustez é um parâmetro tipicamente realizado no desenvolvimento do método analítico que indica a sua capacidade de permanecer inalterável (ou de resistir) a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas, dessa forma fornecendo uma indicação da viabilidade da técnica nas condições normais de utilização, como no grau de reprodutibilidade dos testes de análise, tais como: instrumentos, lotes de reagentes e laboratórios, que nem sempre são idênticos em todas as produções (ANVISA, RDC 166, 2017).

O protocolo de validação é um documento que apresenta a descrição do processo, definição de responsabilidades, descrição de equipamentos utilizados, o tipo de validação a ser executada, treinamentos necessários para a realização, descrição dos métodos utilizados, pontos críticos, dentre outros. Por fim, a avaliação dos resultados incluindo a análise



estatística. Sendo qualquer desvio do protocolo de validação, precisa ser documentado, investigado e justificado (ANVISA, RDC 166, 2017).

O relatório de validação deve conter os resultados da validação de forma compilada e com os critérios de aceitação, os cálculos obtidos com a validação analítica, assim como o tratamento estatístico e avaliação dos dados. Os dados brutos necessários para compor o relatório de validação e outros dados brutos devem estar disponíveis para possíveis inspeções (ANVISA, RDC 166, 2017).

Esse trabalho teve como objetivo a revisão do protocolo e a validação completa do método de análise de pureza radioquímica no radiofármaco IOD-IPEN-123, produzido no IPEN e analisado no laboratório de Controle de Qualidade no Centro de Radiofarmácia (SECQR). Os ensaios foram estabelecidos pela interpretação da RDC 166 de 2017, para radiofármacos. A Tabela 1 apresenta os parâmetros analisados no protocolo de validação analítica.

**Tabela 1** - Parâmetros analisados no protocolo de validação de método de pureza radioquímica de IOD-IPEN-123

<b>Parâmetro</b>	<b>Ensaio Executado</b>
Seletividade	Sim
Precisão - Repetibilidade	Sim
Precisão intermediária	Sim
Linearidade	Sim
Intervalo	Sim
Limite de detecção	Não
Limite de quantificação	Não
Exatidão	Não
Robustez	Sim

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Especificação da Amostra

A validação de método analítico de pureza radioquímica foi realizada para o radiofármaco IOD-IPEN-123, produzido pelo IPEN-CNEN/SP. Apresenta denominação comum brasileira de iodeto de sódio (123 I). O IOD-IPEN-123 é uma solução oral incolor e a concentração radioativa na hora da fabricação é de 5 a 99 mCi/mL e na calibração é de 1 a 20 mCi/mL, sendo armazenado em uma embalagem primária transparente incolor e, a secundária é uma blindagem de chumbo com revestimento plástico.

O IOD-IPEN-123 apresenta as seguintes apresentações produzidas pelo IPEN: 37 MBq (1000  $\mu$ Ci), 111 MBq (3000  $\mu$ Ci), 185 MBq (5000  $\mu$ Ci), 370 MBq (10000  $\mu$ Ci) e 740 MBq (20000  $\mu$ Ci). É livre de carregador.

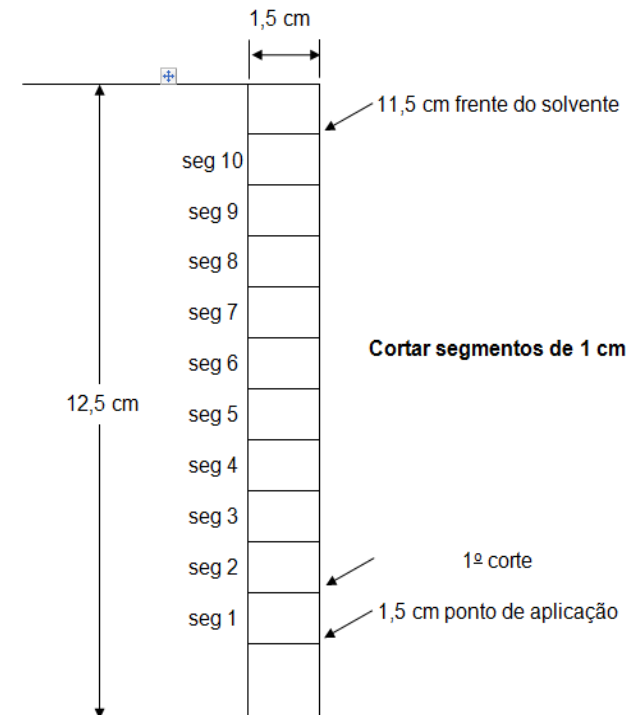
### 4.2. Material e Soluções utilizadas

#### a. Material

Os seguintes materiais foram utilizados para o controle de qualidade do radiofármaco IOD-IPEN-123:

- Amostras do radiofármaco IOD-IPEN-123;
- Cubas de vidro com tampa (50 mm x 150 mm);
- Fitas cromatográficas de papel (Whatman 3 MM) - (figura 4);
- Frascos limpos para preparo das diluições das amostras para execução dos ensaios de validação;
- Calibrador de doses para medição da atividade das amostras;
- Ponteiras descartáveis de 10-20  $\mu$ L;
- Micropipetas;
- Luvas descartáveis;
- Tesoura;
- Contador gama para contagem das fitas cromatográficas (Perkin Elmer – modelo Cobra II).

**Figura 4 - Fita cromatográfica Whatman 3 MM**



**b. Soluções utilizadas**

- Água purificada (Purificador Gehaka modelo Master System - MS3000);
- Metanol PA;
- NaOH 0,01 N.

**4.3. Preparo da bancada**

Foi realizada a preparação da bancada da capela de exaustão, com limpeza e forração da bancada com papel absorvente para evitar contaminações com material radioativo. Foi realizada a separação dos materiais, a saber, cubas de vidro e tampas com suporte para as fitas, com identificação das fitas para o ensaio a ser realizado.

**4.4. Preparo das Soluções**

**a. Preparo da fase móvel (solvente) – metanol: água (85:15) (v/v)**

Solução de metanol:água (85:15) (v/v) foi preparada medindo 42,5mL de metanol e 7,5mL de água com proveta, e misturando os solventes em frasco de vidro seguida de homogeneização. A preparação foi feita em capela de exaustão.

**b. Preparo do diluente**

- **NaOH (Hidróxido de Sódio) 0,01 N**

Foram dissolvidos 0,0400 g de hidróxido de sódio (NaOH) em água purificada. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e completado o volume com água purificada, homogeneizada por inversão do balão e transferida para um frasco limpo. Foi criado o lote IPEN para a solução, com data de fabricação e validade da solução e a etiqueta foi anexada no frasco.

- **NaOH (Hidróxido de Sódio) 0,02 N**

Foram dissolvidos 0,008g de hidróxido de sódio (NaOH) pesados em balança em 10 mL de água purificada. A solução foi transferida para frasco limpo, homogeneizada até a dissolução completa do NaOH.

**c. Preparo da cuba – saturação do ambiente**

Com uma pipeta, foram adicionados 3 mL da fase móvel, metanol 85 % (v/v) para o interior de cubas de vidro, cerca de 30 minutos antes do ensaio. As cubas foram fechadas com tampas, para evitar a evaporação da fase móvel. A tampa possui um dispositivo para sustentar o papel cromatográfico.

**d. Preparo da amostra radioativa**

O frasco contendo a amostra do radiofármaco foi retirado da blindagem de chumbo, colocado no contador de radiação (curiômetro) e a atividade registrada.

Após, a amostra foi levada até a capela de exaustão para ser realizada a diluição com o hidróxido de sódio 0,01 N à concentração de 1,0  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ .

**e. Ensaio**

- **e.1. Fita Cromatográfica**

O papel cromatográfico foi preparado conforme esquema da figura 4. A ativação das fitas cromatográficas foi realizada em estufa a 60 °C, por cerca de 30 minutos, e após, foram mantidas em temperatura ambiente.

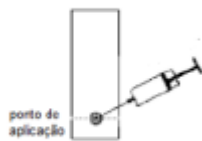
Utilizando micropipeta calibrada, 2  $\mu\text{L}$  da amostra foram aplicados em tantas fitas quanto necessárias para os ensaios, no centro da marca de origem da fita cromatográfica, a uma distância 1,5 cm acima da borda inferior, distância que permite que a amostra radioativa fique acima do nível do solvente no interior da cuba.

Após, as fitas cromatográficas foram colocadas nos suportes das tampas, inseridas com cuidado nas cubas, posicionando-as de maneira a evitar que o papel cromatográfico aderisse à parede de vidro, observando-se a ascensão do solvente por capilaridade durante a corrida cromatográfica. Anotou-se o tempo inicial e o final da corrida cromatográfica.

Ao atingir o ponto demarcado para o solvente percorrer, as fitas foram retiradas das cubas e colocadas na estufa para a secagem, a 60 °C por não mais que 30 minutos.

**Figura 5** – A. Aplicação da amostra do radiofármaco na fita cromatográfica. B. Fitas cromatográficas penduradas em ganchos na tampa da cuba de vidro.

A.



B.



Fonte: Adaptada de Costa *et al.*, 2018 e foto de acervo pessoal.

- **e.2. Leitura da atividade**

A fita foi cortada em segmentos de 1 cm nas posições indicadas (figura 4). Cada segmento foi inserido em um tubo de plástico, e os tubos foram dispostos sequencialmente na estante de contagem da radiação. As estantes foram posicionadas no contador gama para medição da radioatividade em cpm (contagem por minuto), na faixa de energia de 0,1 - 0,25 MeV. O procedimento foi realizado seguindo as instruções da operação do equipamento do contador gama.

## 4.5. Parâmetros Avaliados na Validação Analítica

### 4.5.1. Seletividade

Os ensaios para avaliação da seletividade do método estão relacionados na tabela 2. O efeito do diluente com concentração diferente NaOH 0,02 N, foi analisado. NaOH 0,02 N é utilizado no processo de purificação de I-123, após irradiação pelo ciclotron.

**Tabela 2** - Experimentos no ensaio de seletividade.

Preparo das soluções dos experimentos		
Experimento	Produto IOD-IPEN-123 + NaOH 0,01 N	Produto IOD-IPEN-123 + NaOH 0,02 N
1	Sim	Não
2	Não	Sim
3	Sim	Sim

Foram realizados preparo da bancada (item 4.3) do solvente metanol 85 % (v/v) (item 4.4.a), do diluente NaOH 0,01 N (item 4.4.b), preparo da cuba (item 4.4.c).

Para o ensaio da seletividade, foi utilizada amostra de IOD-IPEN-123, volume 0,20 mL, com atividade de 1276  $\mu\text{Ci}$ .

Para a realização do preparo da amostra radioativa, foi seguido o descrito no item 4.4.d:

Para a preparação da solução do experimento 1, foram utilizados 20  $\mu\text{L}$  da amostra de IOD-IPEN-123 com atividade de 129  $\mu\text{Ci}$ , medida em curiômetro. Para obter concentração de 1  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ , foram utilizados 109  $\mu\text{L}$  (129  $\mu\text{L}$  - 20  $\mu\text{L}$ ) de hidróxido de sódio 0,01 N.

- Para o preparo da solução do experimento 2, foram utilizados 20  $\mu\text{L}$  da amostra de IOD-IPEN-123 com atividade de 117  $\mu\text{Ci}$ , medida em curiômetro. Para obter concentração de 1  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ , foram utilizados 97  $\mu\text{L}$  (117  $\mu\text{L}$  - 20  $\mu\text{L}$ ) de hidróxido de sódio 0,02 N.
- Para o preparo da solução do experimento 3, foram utilizados 20  $\mu\text{L}$  da solução 1 e 20  $\mu\text{L}$  da solução 2 e realizada a homogeneização.

Para o ensaio e aplicação da amostra, realizou-se a identificação das fitas e foi seguido o procedimento descrito no item 4.4.e.1 (fita cromatográfica).

As amostras foram preparadas de acordo com a tabela 1: no experimento 1 foi aplicada apenas a solução contendo IOD-IPEN-123 + NaOH 0,01 N; no experimento 2 foi aplicada a solução contendo IOD-IPEN-123 + NaOH 0,02 N; e no experimento 3 foi aplicada

mistura de IOD-IPEN-123 + NaOH 0,01 N com IOD-IPEN-123 + NaOH 0,02 N. Cada experimento foi realizado em triplicata.

Após a corrida cromatográfica e secagem do solvente, com duração de cerca de uma hora e 20 minutos, foi realizada a contagem radioativa das fitas conforme procedimento descrito em 4.4.e.2 (leitura). Os resultados das contagens estão descritos em resultados e discussão.

#### 4.5.2. Linearidade

Para o ensaio da linearidade foi utilizada a faixa de concentração de 0,05  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  a 1,2  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ . Sendo a amostra de IOD-IPEN-123, volume 0,20 mL, com atividade de 1354  $\mu\text{Ci}$ ,

Foram realizados preparo da bancada (item 4.3) do solvente metanol 85 % (v/v) (item 4.4.a), do diluente NaOH 0,01 N (item 4.4.b), e da cuba (item 4.4.c).

Para a realização do preparo da amostra, foi seguido o procedimento descrito no item 4.4.d: Foram realizadas as preparações nas seguintes concentrações radioativas de IOD-IPEN-123: 0,05  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ , 0,1  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ , 0,5  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ , 0,8  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ , 1,0  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  e 1,2  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ . A tabela 3 tem as informações das atividades e volumes adicionados no experimento. Seguem as descrições de preparo:

**Tabela 3** – Descrição do experimento de linearidade

Concentração	Atividade	Volume adicionado (NaOH 0,01N)	Volume final
0,05 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$	153 $\mu\text{Ci}$ em 50 $\mu\text{L}$	3010 $\mu\text{L}$	3060 $\mu\text{L}$
0,1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$	153 $\mu\text{Ci}$ em 50 $\mu\text{L}$	1480 $\mu\text{L}$	1530 $\mu\text{L}$
0,5 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$	151 $\mu\text{Ci}$ em 50 $\mu\text{L}$	252 $\mu\text{L}$	302 $\mu\text{L}$
0,8 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$	152 $\mu\text{Ci}$ em 50 $\mu\text{L}$	140 $\mu\text{L}$	190 $\mu\text{L}$
1,0 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$	154 $\mu\text{Ci}$ em 50 $\mu\text{L}$	104 $\mu\text{L}$	154 $\mu\text{L}$
1,2 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$	153 $\mu\text{Ci}$ em 50 $\mu\text{L}$	77,5 $\mu\text{L}$	127,5 $\mu\text{L}$

Após a preparação das concentrações de IOD-IPEN-123, em triplicata, foi aplicado volume de 2  $\mu\text{L}$  em um segmento da fita cromatográfica, com 1 cm. Os segmentos foram secos, cada um deles inseridos em tubos de plástico, e dispostos nas estantes para a contagem da radioatividade. As contagens foram realizadas em contador gama, na faixa de energia de 0,1 - 0,25 MeV, seguindo as instruções da operação do equipamento contador gama.

### 4.5.3. Precisão

No ensaio de precisão a amostra foi preparada de acordo com o procedimento descrito no item 4.4.d. Foi utilizado o mesmo lote de amostra do produto IOD-IPEN-123, conforme descrito em métodos.

Para o ensaio de repetibilidade e precisão intermediária, foram realizadas seis determinações a 100% da concentração do teste individualmente preparadas.

#### a. Repetibilidade

No ensaio de repetibilidade, inicialmente foi realizado o preparo da bancada (item 4.3), do solvente metanol 85% (v/v) (item 4.4.a), do diluente NaOH 0,01 N (item 4.4.b), preparo da cuba (item 4.4.c). Para o ensaio da repetibilidade foi utilizada a amostra C de IOD-IPEN-123, volume 0,10 mL, com atividade de 168,6  $\mu\text{Ci}$ ,

Para a realização do preparo da amostra foi seguido o procedimento descrito no item 4.4.d, sendo retirado 50  $\mu\text{L}$  de IOD-IPEN-123 com atividade 102  $\mu\text{Ci}$  e adicionado volume de 52  $\mu\text{L}$  de NaOH 0,01 N, obtendo-se concentração de 1  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ .

Para o ensaio e aplicação da amostra radioativa foi seguido o procedimento descrito no item 4.4.e.1 (fita cromatográfica), realizando-se a identificação das fitas. Ao término da corrida cromatográfica, em torno de uma hora e 20 minutos, foi realizada contagem da radioatividade, conforme descrito em 4.4.e.2 (leitura). Os resultados das contagens estão descritos em resultados e discussão.

#### b. Precisão Intermediária

Nesta validação, todas as condições utilizadas no ensaio da repetibilidade foram mantidas, porém a execução do ensaio foi feita por um segundo analista, no mesmo dia, evitando-se o decaimento da atividade da amostra.

Inicialmente foi realizado o preparo da bancada (item 4.3), do solvente metanol 85 % (v/v) (item 4.4.a), do diluente NaOH 0,01 N (item 4.4.b), preparo da cuba (item 4.4.c). Para o ensaio da precisão foi utilizada a amostra de IOD-IPEN-123, volume 0,05 mL, com atividade de 164,2  $\mu\text{Ci}$ .

Para a realização do preparo da amostra, foi seguido o procedimento descrito no item 4.4.d, foram pipetados 50  $\mu\text{L}$  de IOD-IPEN-123 com atividade 84  $\mu\text{Ci}$ , foram adicionados volume de 34  $\mu\text{L}$  de NaOH 0,01 N, obtendo-se concentração em 1  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ .

Para o ensaio e aplicação da amostra radioativa, foi seguido o procedimento descrito no item 4.4.e.1 (fita cromatográfica), realizando-se a identificação das fitas. Ao término da



corrida cromatográfica, em torno de uma hora e 20 minutos, foi realizada a contagem da radioatividade, conforme descrito em 4.4.e.2 (leitura). Os resultados das contagens estão descritos em resultados e discussão.

#### 4.5.4. Exatidão

Este ensaio não foi realizado, pois não há disponível uma substância química de referência farmacopeica (SQRF) para Iodo-123, para avaliar a capacidade do método analítico em recuperar IOD-IPEN-123 na presença de SQRF.

#### 4.5.5. Robustez

Para esta metodologia, no ensaio de robustez foram avaliados 2 volumes de amostra de 2 concentrações radioativas.

**Tabela 4** - Dados das concentrações radioativas e volumes da amostra.

Concentração radioativa	Volume de amostra
1,2 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ (A)	5 $\mu\text{L}$ (B)
0,5 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ (a)	2 $\mu\text{L}$ (b)

Foi realizado o preparo da bancada (item 4.3) do solvente metanol 85% (v/v) (item 4.4.a), do diluente NaOH 0,01 N (item 4.4.b), e preparo da cuba (item 4.4.c).

Foi utilizada a amostra de IOD-IPEN-123, volume 0,05 mL, com atividade de 425  $\mu\text{Ci}$ .

Para o preparo da amostra, foi seguido o procedimento descrito no item 4.4.d:

- Preparo da amostra de concentração radioativa de 0,5  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$

Foram retirados 20  $\mu\text{L}$  IOD-IPEN-123 com atividade 134  $\mu\text{Ci}$  e adicionado o volume de 248  $\mu\text{L}$  de NaOH 0,01 N, obtendo-se concentração radioativa de 0,5  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ .

- Preparo da amostra de 1,2  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$

Foram retirados 20  $\mu\text{L}$  IOD-IPEN-123 com atividade 144  $\mu\text{Ci}$  e adicionado o volume de 100  $\mu\text{L}$  de NaOH 0,01 N, obtendo-se concentração radioativa de 1,2  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ .

A ativação da fita cromatográfica foi realizada em estufa a 60 °C, por cerca de 30 minutos; após, as fitas cromatográficas foram mantidas em temperatura ambiente.

A tabela 5 mostra as condições dos 3 experimentos. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

**Tabela 5** - Condição dos ensaios conforme variáveis descritas na tabela 4.

<b>Condições dos ensaios</b>		
Ensaio	Concentração radioativa	Volume de amostra
1	A	B
2	A	b
3	a	B

O ensaio na condição nº 1 foi realizado fazendo aplicação de 5  $\mu\text{L}$  da amostra de concentração 1,2  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ . O ensaio nº 2 foi realizado fazendo aplicação de 2  $\mu\text{L}$  da amostra de concentração 1,2  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ . O ensaio nº 3 foi realizado fazendo aplicação de 5  $\mu\text{L}$  da amostra de concentração 0,5  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ .

Utilizando micropipeta calibrada, 2  $\mu\text{L}$  da amostra foram aplicados no centro da marca de origem da fita cromatográfica, a uma distância 1,5 cm acima da borda inferior, distância que permite que a amostra radioativa fique acima do nível do solvente no interior da cuba. Após, as fitas cromatográficas foram colocadas nos suportes das tampas, inseridas com cuidado nas cubas, posicionando-as de maneira a evitar que o papel cromatográfico aderisse à parede de vidro, observando-se a ascensão do solvente por capilaridade durante a corrida cromatográfica. Anotou-se o tempo inicial e o final da corrida cromatográfica. Ao atingir o ponto demarcado para o solvente percorrer, as fitas foram retiradas das cubas e colocadas na estufa para a secagem, a 60 °C por não mais que 30 minutos. Ao término da corrida, em torno de uma hora e 20 minutos, foi realizada a contagem da radioatividade, conforme descrito em 4.4.e.2 (leitura). Os resultados das contagens estão em resultados e discussão.

Os dados obtidos nos resultados foram tratados estatisticamente no Excel e no Minitab.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foi realizada validação completa, pois o método de pureza radioquímica utilizado pela instituição é diferente da descrita na Farmacopeia Americana (papel com 30cm e metanol 7em 10) e pela Farmacopeia Europeia (cromatografia líquida com coluna C18 e fase móvel composta por cloreto de sódio, octilamina, ácido fosfórico e acetonitrila). A validação do método analítico da determinação da pureza radioquímica do IOD-IPEN-123 utilizando cromatografia planar em papel foi realizada de acordo com procedimentos estabelecidos em protocolo para parâmetros definidos na RDC 166 de 24 de julho de 2017, que dispõe sobre a validação de métodos analíticos e de outras providências.

Por não possuir literatura disponível para validação de radiofármacos, foi realizada uma adequação dos conceitos da validação de métodos analíticos convencionais para substâncias radioativas. Os ensaios para o radiofármaco IOD-IPEN-123 foram estabelecidos através de uma adequação do processo de validação do IOD-IPEN-131.

### 4.1. Seletividade

No ensaio de seletividade foi avaliado o efeito da concentração de NaOH, utilizado na diluição de IOD-IPEN-123, no Rf das espécies radioquímicas. O Rf, ou fator de retardamento, é uma característica do composto no sistema cromatográfico, e quando ocorre interferência, o Rf pode se alterar, representando, portanto, um bom indicador para o ensaio de seletividade.

O IOD-IPEN-123 foi preparado em duas concentrações de NaOH, sendo a primeira em 0,01 N e a segunda em 0,02 N. A tabela 6 mostra a faixa dos critérios de aceitação do fator de retardamento.

**Tabela 6** - Critérios de aceitação do Rf de I-123 no ensaio de seletividade

Critérios de aceitação	
Experimento	Critério
1	Rf IOD-IPEN-123 = 1,0
2	Rf IOD-IPEN-123 = 1,0
3	Rf IOD-IPEN-123 = 1,0

Rf: Fator de retardamento.

O Rf do radiofármaco IOD-IPEN-123 no ensaio de seletividade pode ser observado nos perfis das contagens nas fitas cromatográficas, considerando-se que no experimento 1

foi aplicada amostra de IOD-IPEN-123 em NaOH 0,01 N; no experimento 2, IOD-IPEN-123 em NaOH 0,02 N e no experimento 3 a mistura (IOD-IPEN-123 em NaOH 0,01 N + IOD-IPEN-123 em NaOH 0,02 N). Na tabela 7 estão representadas as contagens das fitas cromatográficas, obtidas em contador gama.

**Tabela 7 – Contagem (cpm) nas fitas cromatográficas, no ensaio de seletividade**

Segmento da fita	Experimento 1 (IOD-IPEN-123 + NaOH 0,01 N)			Experimento 2 (IOD-IPEN-123 + NaOH 0,02 N)			Experimento 3 (IOD-IPEN-123 em NaOH 0,01 N + IOD-IPEN-123 em NaOH 0,02 N)		
	Fita 1 (cpm)	Fita 2 (cpm)	Fita 3 (cpm)	Fita 1 (cpm)	Fita 2 (cpm)	Fita 3 (cpm)	Fita 1 (cpm)	Fita 2 (cpm)	Fita 3 (cpm)
1	533,2	2433,2	4043,2	1983,2	2143,2	2008,2	2053,2	1988,2	1648,2
2	888,2	3383,2	1898,2	1623,2	683,2	1468,2	1433,2	1093,2	1148,2
3	1378,2	3053,2	2648,2	2493,2	1673,2	2063,2	1858,2	1083,2	1203,2
4	1963,2	2893,2	3463,2	3128,2	2018,2	2233,2	2303,2	1883,2	1658,2
5	2513,2	3648,2	3618,2	3958,2	2848,2	3083,2	3098,2	2718,2	2743,2
6	3508,2	4638,2	5073,2	5983,2	5283,2	4168,2	4133,2	3688,2	4943,2
7	6928,2	8243,2	7633,2	8393,2	10013,2	2518,2	6663,2	6388,2	7588,2
8	108868	32488,2	65493,2	97758,2	15158,2	76608,2	32343,2	69223,2	124263
9	1611453	975078	1407813	1299243	295523	1269383	938838	1863693	1705403
10	726983	1307358	876043	915843	2029428	971398	1394048	475768	655623
<b>%PRQ</b>	<b>99,70</b>	<b>99,34</b>	<b>99,34</b>	<b>99,43</b>	<b>99,60</b>	<b>99,53</b>	<b>99,54</b>	<b>99,63</b>	<b>99,66</b>
<b>Rf</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>

PRQ: pureza radioquímica; Rf: Fator de retardamento

**Tabela 8** – Resultados de Rf de IOD-IPEN-123 no ensaio de pureza radioquímica no ensaio de seletividade.

<b>Resultados</b>									
<b>Parâmetros</b>	<b>Experimento 1</b>			<b>Experimento 2</b>			<b>Experimento 3</b>		
Fita Cromatográfica	Fita 1	Fita 2	Fita 3	Fita 1	Fita 2	Fita 3	Fita 1	Fita 2	Fita 3
Rf	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
<b>C/NC</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>

Rf: Fator de retardamento; C: conforme; NC: Não conforme

As contagens das fitas mostram que os resultados de Rf de IOD-IPEN-123 encontra-se em 1,0, conforme pode ser observado na tabela 8.

Quanto ao parâmetro de seletividade, devido à simplicidade da fórmula padrão de IOD-IPEN-123, que consiste na diluição do radionuclídeo em NaOH, somente foi a concentração da solução utilizada na produção do radiofármaco, na etapa de purificação, foi avaliada. A modificação da concentração do diluente NaOH de 0,01 N para 0,02 N, não causou alteração no Rf de IOD-IPEN-123.

O resultado de pureza radioquímica foi livre de interferências para a faixa de concentração de NaOH estudada e o método foi considerado seletivo.

#### **4.2. Linearidade**

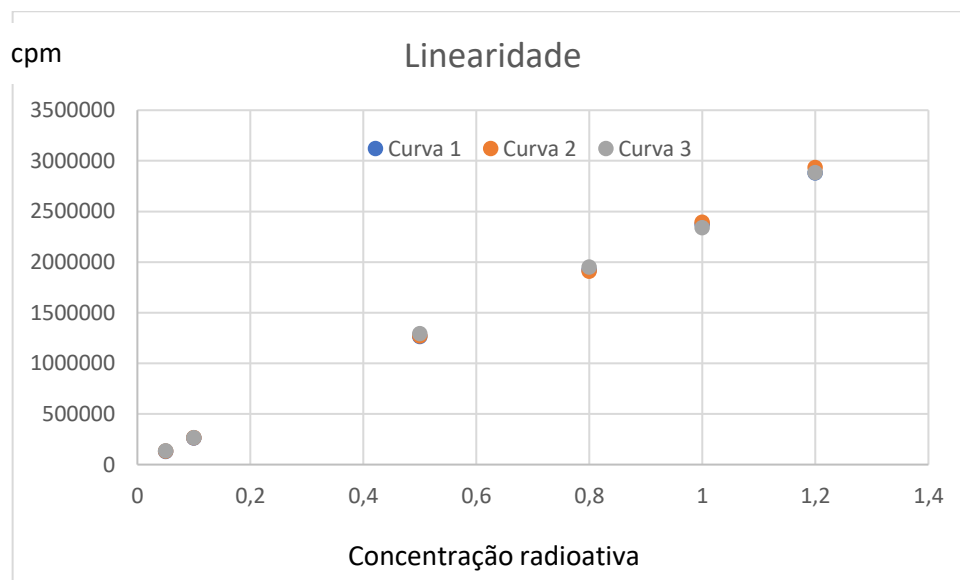
A concentração radioativa de trabalho da amostra de IOD-IPEN-123 é de 1,0  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ , sendo, portanto, considerada a concentração 100%. A RDC nº 166/2017 estabelece que para o estabelecimento da linearidade, deve-se utilizar, no mínimo, 5 concentrações diferentes da SQR preparadas em, no mínimo, triplicata, de maneira independente, podendo ser utilizadas soluções diluídas de uma mesma solução mãe da SQR. Além disso, a faixa de trabalho deve ser estabelecida a partir dos estudos de linearidade, e deve contemplar entre 80 a 120% da concentração esperada da substância ativa. Neste trabalho, foram preparadas 6 concentrações radioativas em triplicata e analisadas de maneira independente, contemplado a faixa de concentração de 5 a 120 %. As concentrações radioativas das amostras foram: 0,05  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  (5%), 0,1  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  (10%), 0,5  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  (50%), 0,8  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  (80%), 1,0  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  (100%) e 1,2  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  (120%). A forma de preparo de cada concentração foi descrita em materiais e métodos. A extensão da faixa de concentração radioativa com aumento do número de pontos visou abranger contagens para determinação de pureza radioquímica variadas.

Na tabela 9 estão descritos os resultados de contagem (cpm) das diversas concentrações radioativas de I-123, e a representação gráfica estão dispostas nas figuras 6 e 7.

**Tabela 9 - Resultado das contagens (cpm) das 6 concentrações radioativas de I-123**

Dados dos resultados				
Diluições Faixa de trabalho	Concentração radioativa ( $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ )	Contagem por minuto (cpm)		
		Curva 1	Curva 2	Curva 3
Diluição 1 (5%)	0,05	130603	132623	136358
Diluição 2 (10%)	0,1	262433	265128	265663
Diluição 3 (50%)	0,5	1264373	1271188	1293813
Diluição 4 (80%)	0,8	1924738	1910843	1950958
Diluição 5 (100%)	1,0	2374098	2395328	2342153
Diluição 6 (120%)	1,2	2880743	2934713	2883533

**Figura 6 – Representação gráfica da linearidade entre contagem (cpm) e concentração radioativa de I-123. Curva 1; Curva 2 e Curva 3.**



O Guia 10, 2017 recomenda que o ajuste da equação seja feito pelo método dos mínimos quadrados (MMQ) (Art 27.III) (ANVISA, Guia 10, 2017).

Para que o ajuste possa ser feito pelo MMQ, as seguintes condições precisam ser atendidas: modelo é linear com coeficiente angular diferente de zero, homocedasticidade das variâncias dos resíduos, resíduos seguem distribuição normal, resíduos não estão

correlacionados entre si, não há *outliers* em y e  $r > 0,990$ .

Caso as condições não sejam satisfeitas, tentar MMQ ponderados.

A análise de variância obtida pelo ANOVA resultou na tabela 10 e gráfico da figura 7.

**Tabela 10** – Tratamento estatístico dos dados de linearidade. A. ANOVA, B. Coeficientes, C. Regressão, D. Gráfico de dispersão de resíduos

#### A. ANOVA

ANOVA	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	1,9E+13	1,9E+13	15049,01	3,18E-25
Resíduo	16	2,02E+10	1,26E+09		
Total	17	1,9E+13			

gl = graus de liberdade, SQ = soma dos quadrados, MQ = médias quadráticas

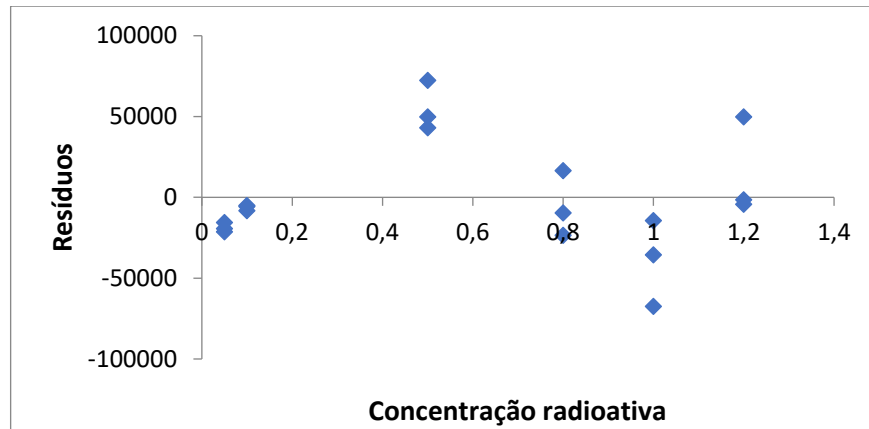
#### B. Dados de Coeficientes

Coeficiente	Valor	Erro padrão	Stat t	valor-P
Coeficiente linear	33092	14459,72	2,2886	0,036044
Coeficiente angular	2376586	19373,13	122,6744	3,18E-25

Resultou na equação: Contagem (cpm) = 33 092 + 23 765 587 [concentração radioativa]

#### C. Dados de Regressão

R correlação	0,99946
R-determinação ( $r^2$ )	0,9989
R-quadrado ajustado	0,9988
Erro padrão	35544,5
Número de observações	18

**Figura 7** – Gráfico de dispersão de resíduos

Avaliou-se a homocedasticidade das variâncias dos resíduos pelo teste de Cochran. Obteve-se  $C_{\text{calc}}=0,044$  e  $C_{\text{crítico}}(3,6) = 0,616$ . Como  $C < C_{\text{crítico}}(3,6)$ , a homocedasticidade foi demonstrada.

Para verificar a existência de outliers, foi aplicado o teste de Grubbs considerando-se 18 dados, com  $Z$  crítico de 2,65. Como  $Z$  calculado  $< Z$  crítico, no nível de significância de 5%, nenhum dado precisou ser rejeitado.

Foi aplicado o teste de normalidade de Ryan-Joiner e a distribuição gráfica dos resíduos atestou que estes seguem uma normal.

O teste de independência dos resíduos por Durbin-Watson (dados não descritos aqui) permitiu atestar que os resíduos não estão correlacionados.

Considerando que todos os critérios do teste de MMQ foram atendidos, a faixa de trabalho de 5 % a 120% da concentração radioativa de  $1,0 \mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  (100%) contendo 6 pontos de análise apresentou linearidade adequada.

#### 4.3. Intervalo (faixa de trabalho)

Os resultados das curvas de calibração indicam que há linearidade entre 5 % a 120% da concentração radioativa de  $1,0 \mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  e, portanto, esta corresponde à faixa de trabalho para o ensaio de pureza radioquímica de I-123. Esta faixa de trabalho permite quantificar ao produto e à impureza a partir das contagens obtidas.

#### 4.4. Precisão

O ensaio foi realizado como descrito em materiais e métodos. Na tabela 11 estão descritos os critérios de aceitação dos parâmetros do estudo.



**Tabela 11 - Parâmetros e critérios de aceitação do ensaio de precisão**

Plano de Estudo				
Parâmetro	Nº Amostras	Condições	Critério de aceitação	
			PRQ	DPR
Repetibilidade	6	Analista 1	≥ 95,0%	≤ 5,0%
Precisão intermediária	6	Analista 2	≥ 95,0%	≤ 5,0%
		Mesmo dia do analista 1		

DPR: Desvio Padrão Relativo

Nas tabelas 12 e 13 estão descritos os resultados das contagens (cpm) das fitas no contador gama do ensaio de repetibilidade e precisão intermediária, respectivamente.

Para a determinação da repetibilidade, as amostras foram avaliadas nas mesmas condições de laboratório e mesma instrumentação.

**Tabela 12 - Resultados de pureza radioquímica no ensaio de repetibilidade: contagens (cpm) em cada um dos segmentos das 6 fitas**

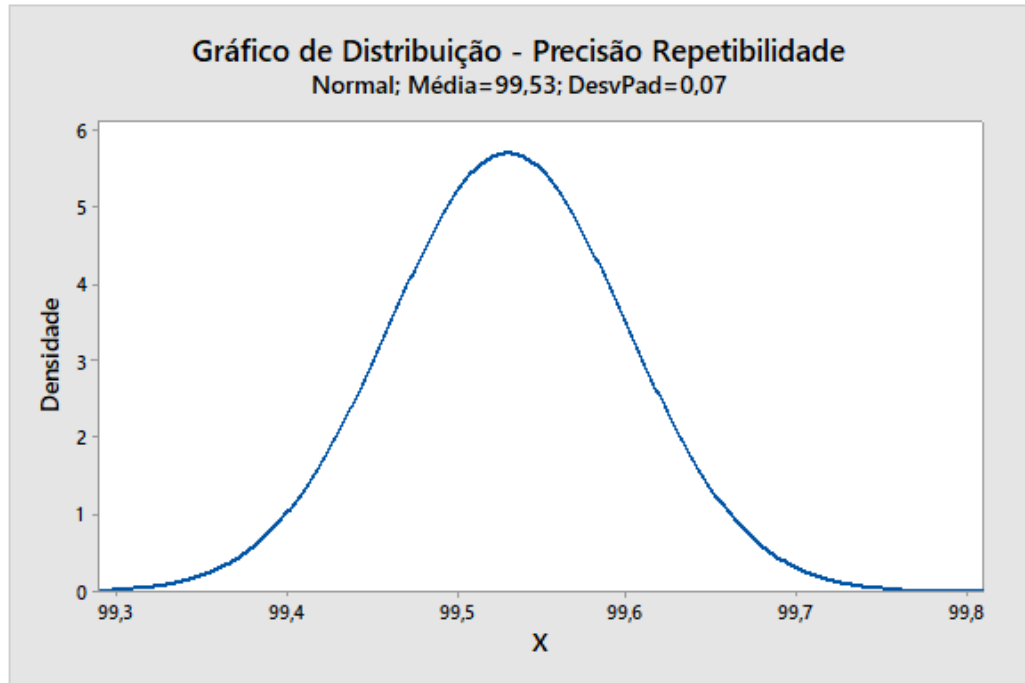
Segmento da fita	Fita 1 (cpm)	Fita 2 (cpm)	Fita 3 (cpm)	Fita 4 (cpm)	Fita 5 (cpm)	Fita 6 (cpm)
1	1944,4	1599,4	704,4	2004,4	1849,4	2004,4
2	1764,4	1264,4	1379,4	1329,4	1039,4	1724,4
3	2379,4	2314,4	2754,4	1769,4	4394,4	2464,4
4	2109,4	2229,4	2149,4	1759,4	2644,4	2779,4
5	3154,4	2259,4	3074,4	2289,4	2769,4	2774,4
6	6029,4	3629,4	3494,4	4209,4	3309,4	3674,4
7	10029,4	5209,4	6539,4	16769,4	6784,4	12929,4
8	359064	55164,4	119414	266549	195404	230684
9	1571794	1433909	1258874	1576664	1529649	1629194
10	383284	794824	802574	601599	401384	526249
<b>%PRQ</b>	<b>99,51</b>	<b>99,58</b>	<b>99,54</b>	<b>99,63</b>	<b>99,40</b>	<b>99,51</b>
<b>M</b>	<b>99,53%</b>					
<b>DP</b>	<b>0,074</b>					
<b>DPR</b>	<b>0,074</b>					

PRQ: Pureza Radioquímica; M: Média; DP: Desvio padrão e DPR: Desvio padrão relativo.

O DPR no ensaio de repetibilidade foi de 0,07.

A Figura 10 mostra a distribuição dos resultados no ensaio de repetibilidade. Apresenta perfil simétrico em torno de seu ponto médio.

**Figura 8**– Análise gráfica da distribuição do ensaio de Precisão – Repetibilidade.



**Tabela 13** – Contagens (cpm) em cada um dos segmentos das 6 fitas - Resultados de pureza radioquímica no ensaio de precisão intermediária

Segmento da fita	Fita 1 (cpm)	Fita 2 (cpm)	Fita 3 (cpm)	Fita 4 (cpm)	Fita 5 (cpm)	Fita 6 (cpm)
1	2609,4	2854,4	2639,4	2694,4	2619,4	2759,4
2	1904,4	1774,4	2064,4	1514,4	1674,4	2144,4
3	4094,4	4159,4	2764,4	3129,4	3679,4	3559,4
4	3059,4	3074,4	3324,4	3564,4	2739,4	2994,4
5	3954,4	3699,4	3554,4	3764,4	2944,4	3344,4
6	6134,4	6094,4	5144,4	8234,4	4339,4	6104,4
7	12229,4	12934,4	21074,4	10759,4	6689,4	25004,4
8	291624	266989	602314	67284,4	37924,4	544399
9	2589720	2002529	2409295	1925959	1130394	2419465
10	375924	847064	310799	651229	1213334	235569
<b>%PRQ</b>	<b>99,52</b>	<b>99,50</b>	<b>99,57</b>	<b>99,45</b>	<b>99,43</b>	<b>99,54</b>
<b>M</b>	<b>99,50%</b>					
<b>DP</b>	<b>0,054</b>					
<b>DPR</b>	<b>0,054</b>					

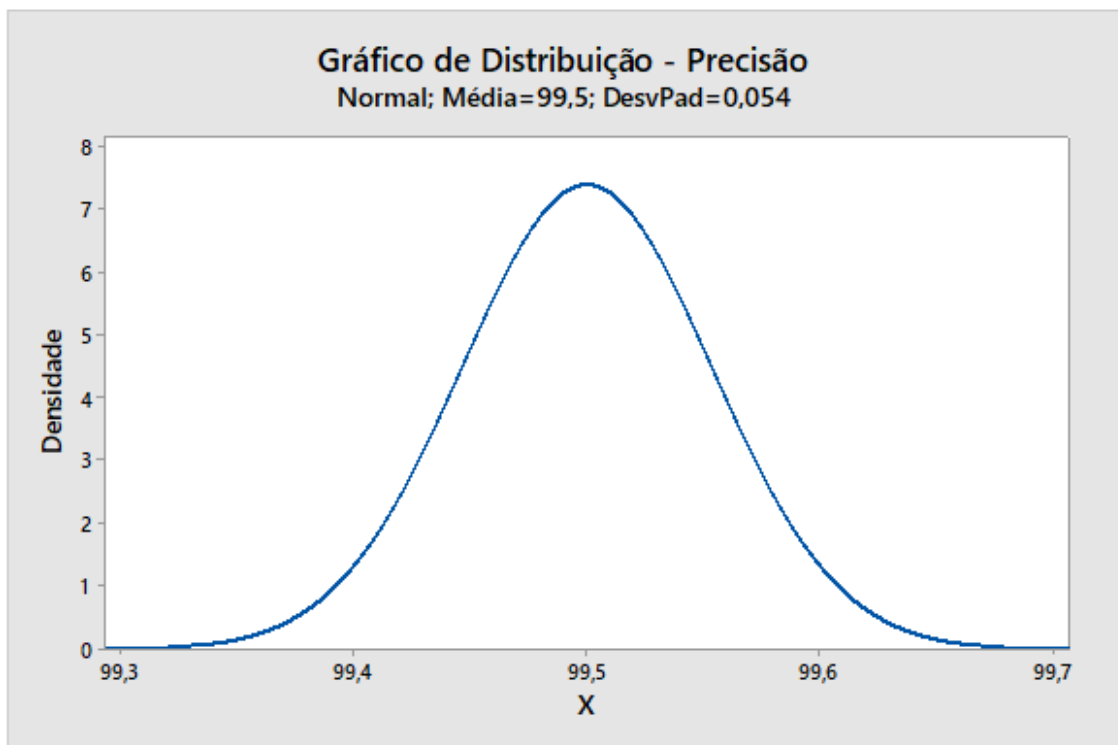
PRQ: Pureza Radioquímica; M: Média; DP: Desvio padrão e DPR: Desvio padrão relativo

O desvio padrão foi de 0,054.

A Figura 8 mostra a distribuição dos resultados no ensaio de repetibilidade. Apresenta perfil simétrico em torno de seu ponto médio.

Na precisão intermediária, 6 réplicas independentes a 100% da concentração estudada foram executadas por 2 analistas diferentes. Foram utilizadas as mesmas condições e critérios da repetibilidade, variando-se a execução por outro analista, no mesmo dia, evitando-se influência do decaimento da atividade do IOD-IPEN-123.

**Figura 9** – Análise gráfica da distribuição do ensaio de Precisão – Precisão Intermediária.



**Tabela 14 – A.** Resultados da pureza radioquímica do IOD-IPEN-123 na Repetibilidade e Precisão Intermediária e **B.** Desvio padrão relativo de resultados da pureza radioquímica de dois analistas.

**A.**

<b>Precisão</b>	<b>Analista 1 (Repetibilidade)</b>	<b>Analista 2 (Prec. Intermediária)</b>
<b>Pureza radioquímica (%)</b>	99,51	99,52
	99,58	99,50
	99,54	99,57
	99,63	99,45
	99,40	99,43
	99,51	99,54
<b>Média</b>	<b>99,53 (%)</b>	<b>99,50 (%)</b>
<b>DP</b>	<b>0,074</b>	<b>0,054</b>
<b>DPR</b>	0,074	<b>0,054</b>

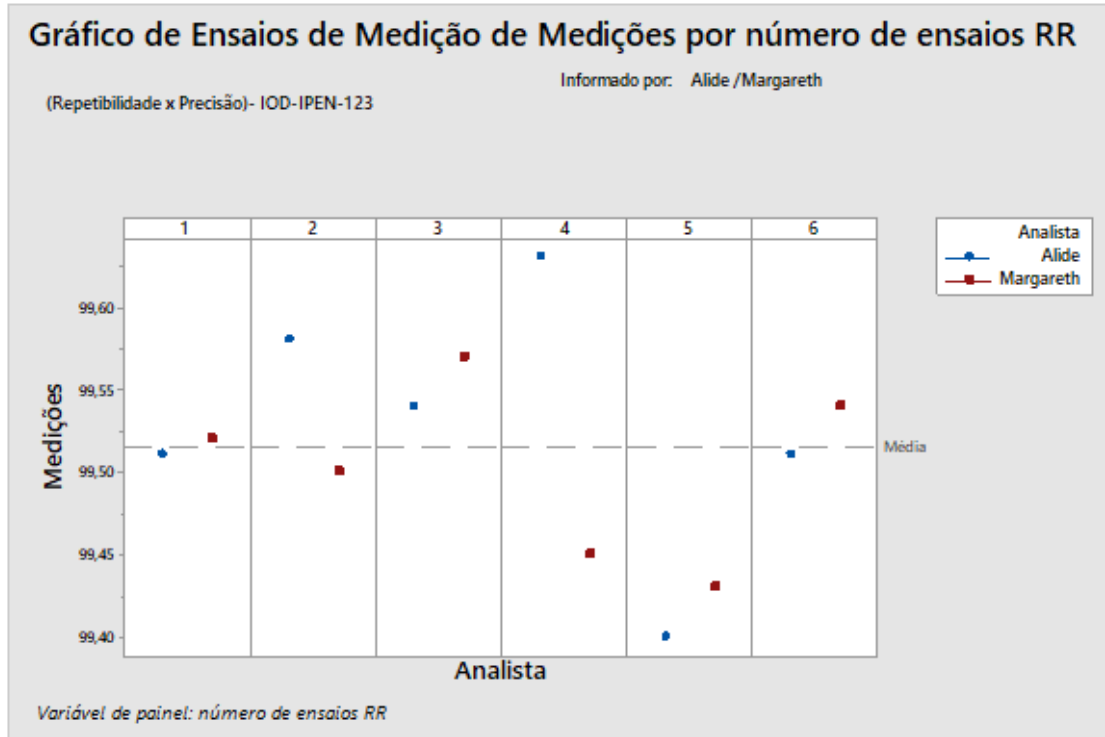
Prec.: Precisão; DP: Desvio Padrão; DPR: Desvio Padrão Relativo.

**B.**

<b>Resultados</b>		
<b>Analista</b>	<b>% PRQ - Média</b>	<b>DPR</b>
<b>1</b>	99,53	0,02
<b>2</b>	99,50	

PRQ: Pureza radioquímica; DPR: Desvio Padrão Relativo

**Figura 10** – Representação gráfica da correlação dos dados do ensaio de Repetibilidade x Precisão intermediária.



O gráfico da figura 10 mostra que os 2 analistas apresentaram boa precisão intermediária, com DPR de 0,021%, e atenderam ao critério de aceitação da ANVISA inferior a 5%. IOD-IPEN-123 atendeu ao critério de aceitação de %PRQ que é igual ou acima de 95%.

#### 4.5. Robustez

As variações mais prováveis no ensaio são relacionadas à quantidade de amostra e à concentração radioativa. O preparo das amostras do ensaio de robustez está descrito em materiais e métodos.

O ensaio de robustez foi realizado, em triplicata, em duas concentrações radioativas de IOD-IPEN-123, uma de 0,5  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  e outra de 1,2  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  e dois volumes, 2  $\mu\text{L}$  e 5  $\mu\text{L}$ . Os resultados da soma das leituras do contador dos segmentos do 6 ao 10 e do 1 ao 10, em cpm, encontram-se nas tabelas 15, 16, 17 e 18.

**Tabela 15** – Resultados de pureza radioquímica no ensaio de Robustez - Experimento 1:  
concentração 1,2  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  (A) com volume de 5  $\mu\text{L}$  (B)

A +	Cont. Seg 6 ao 10 (cpm)			Cont. Seg 1 ao 10 (cpm)			PRQ (%)		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3
B	4598357	4555397	4357062	4613827	4576427	4370692	99,66	99,54	99,68
<b>Média</b>							<b>99,63</b>		

F1: fita 1; F2: fita 2; F3: fita 3

Cont.: contagem; Seg.: Segmento; PRQ: Pureza radioquímica.

**Tabela 16** - Resultados de pureza radioquímica no ensaio de Robustez – Experimento 2:  
concentração 1,2  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  (A) com volume de 2  $\mu\text{L}$  (b)

A +	Cont. Seg 6 ao 10 (cpm)			Cont. Seg 1 ao 10 (cpm)			PRQ (%)		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3
b	1849522	1886407	2271127	1857127	1894527	2280547	99,59	99,57	99,58
<b>Média</b>							<b>99,58</b>		

F1: fita 1; F2: fita 2; F3: fita 3

Cont.: contagem; Seg.: Segmento; PRQ: Pureza radioquímica.

**Tabela 17** - Resultados de pureza radioquímica no ensaio de Robustez - Experimento 3:  
concentração 0,5  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$  (a) com volume de 5  $\mu\text{L}$  (B)

a +	Cont. Seg 6 ao 10 (cpm)			Cont. Seg 1 ao 10 (cpm)			PRQ (%)		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3
B	2411602	2028422	2171117	2419992	2035027	2178572	99,65	99,67	99,65
<b>Média</b>							<b>99,66</b>		

F1: fita 1; F2: fita 2; F3: fita 3

Cont.: contagem; Seg.: Segmento; PRQ: Pureza radioquímica.

**Tabela 18** – Resultados de pureza radioquímica no ensaio de robustez

Experimentos			PRQ (%)	DP	DPR
1	A	B	99,63	0,04	0,03
2	A	b	99,58		
3	a	B	99,66		

As alterações promovidas na concentração radioativa da amostra e no volume de amostra no ensaio de robustez não produziram resultados significativamente diferentes para as condições avaliadas (tabela 18), com DP de 0,04, e pureza radioquímica acima do critério de aceitação de que é maior ou igual a 95%. As variações de volume de amostra e de concentração radioativa (dentro da faixa de trabalho) não apresentam interferência na recuperação do ativo e não produziram restrições ao procedimento de ensaio.

Variável – Concentração radioativa

Txi = Variação da variável

$E_v = 99,55$

$$Tx_i = \frac{|E_v| \sqrt{m}}{DP \sqrt{2}}$$

$$Tx_i = \frac{|99,55 - 99,62| \sqrt{1}}{0,04 \sqrt{2}}$$

$$\mathbf{Tx_i = 0,2475}$$

Graus de liberdade 1 – valor referência 6,314

Valor encontrado de **Txi = 0,2475, sendo inferior ao de referência**

Variável – Volume da amostra

Txi = Variação da variável

$E_v = 99,71$

$$Tx_i = \frac{|E_v| \sqrt{m}}{DP \sqrt{2}}$$

$$Tx_i = \frac{|99,71 - 99,62| \sqrt{1}}{0,04 \sqrt{2}}$$

$$\mathbf{Tx_i = 0,3128}$$

Graus de liberdade 1 – valor referência 6,314

Valor encontrado de **Txi = 0,3128, sendo inferior ao referência**

## 5. CONCLUSÃO

Observou-se escassez na literatura para validação de método analítico aplicada a radiofármacos, sendo necessária a experiência de profissionais do setor para interpretar a RDC nº 166/2017 para nortear a elaboração e a execução do protocolo de validação do método de pureza radioquímica do IOD-IPEN-123. Não existe Substância Química de Referência para radiofármacos e não foi possível produzir solução que simulasse todas as etapas da produção com ausência do material radioativo para o ensaio de seletividade; desta forma, foi utilizada a estratégia de adicionar reagentes utilizados em processo no ensaio de seletividade em amostra do produto final.

A pureza radioquímica do IOD-IPEN-123 utiliza, através da técnica de cromatografia em papel, um método acessível e barato para realizar o controle de qualidade do radiofármaco. Os resultados de pureza radioquímica de todos os ensaios realizados na execução do protocolo de validação do radiofármaco IOD-IPEN-123, atenderam ao critério de aceitação de igual ou acima 95%. O atendimento à especificação de PRQ igual ou acima de 95% em nossos experimentos indica que o radiofármaco apresenta a qualidade necessária para evitar que o paciente, e o profissional de saúde recebam dose de radiação desnecessária, causada por impurezas radioquímicas.

Concluimos que os ensaios de seletividade, linearidade, faixa de trabalho, precisão e robustez definidos pela RDC nº166/2017 e estabelecidos no protocolo de validação completa do método de pureza radioquímica desenvolvido pelo IPEN para o IOD-IPEN-123 produziram resultados que atenderam aos critérios estabelecidos. Desta forma, a validação confirmou que o método é adequado para ser utilizado na rotina de controle de qualidade do radiofármaco.



## 6. REFERÊNCIAS

1. AGUERO, P.; FINOZZI, R.; NEILL, N.; AMARILL, D.; RONCO, A. L.; PINEYRO, M. Tumor neuroendocrino y terapia con lutécio. Caso Clínico – Rev. Méd Urug. v. 37, n. 4, p. 1 – 5, 2021.
2. ANDRADE, W. G.; SANTOS, P. A. L.; LIMA, F. R. de A.; LIMA, F. F. Utilização da Cromatografia em Camada Delgada para Determinação da Pureza Radioquímica de Radiofármacos em Serviços de Medicina Nuclear da Paraíba e Rio Grande do Norte, Brasil. SCIENTIA PLENA. v. 8, n. 11, 2012.
3. ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira, volume 1. 6ª Ed. Brasília, 2019.
4. ARAÚJO, E. B.; LAVINAS, T.; COLTURATO, M. T.; MENGATTI, J. Garantia da qualidade aplicada à produção de radiofármacos. Rev. Bras. Cienc. Farm. v. 44, n. 1, p. 1 - 12, 2008.
5. BARTEL, T. B.; MAGEREFTEH, S.; AVRAM, A. M.; BALON, H. R.; BLANCHE, L. E.; DADPARVAR, S.; JOHNSTON, M.; MOREAU, S. SNMMI Procedure Standard for Scintigraphy for Differentiated Thyroid Cancer. J Nucl Med Technol. v. 48, n. 3, 2020.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas em Oncologia/Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde – Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolos\\_clinicos\\_diretrizes\\_terapeuticas\\_oncologia.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolos_clinicos_diretrizes_terapeuticas_oncologia.pdf). Acesso em: 03 de fevereiro de 2021.
7. BERGMANN, W. C. K.; CHIELLI, E. O. AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DO HORMÔNIO TIREOESTIMULANTE (TSH) DE MULHERES DO EXTREMO-OESTE CATARINENSE. Unoesc & Ciência – ACBS. v. 6, n. 1, p. 23-28, 2015.
8. BUSHONG, S. C. Ciência Radiológica para Tecnólogos: Física, Biologia e Proteção. 9ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
9. CARVALHO, G. A.; GRAF, H. Carcinoma Indiferenciado de Tireóide. Arq Bras Endocrinol Metab. v. 49, n. 5, p. 719 - 724, 2005.
10. CARVALHO, G. A.; PEREZ, C. L. S.; WARD, L. S. Utilização dos testes de função tireoidiana na prática clínica. Arq Bras Endocrinol Metab. v. 57, n. 3, p. 193 – 204, 2013.
11. CATANOSO, M. F. Purificação de <sup>123</sup>I e <sup>131</sup>I para marcação de biomoléculas. 2011. 99 fls. Dissertação (Mestrado em Ciência na área de Tecnologia Nuclear – aplicações), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em <<https://teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85131/tde-15092011-144958/publico/2011CatanosoPurificacao.pdf>> (data de consulta no formato: 26/07/2022).

12. CHEN, M. K.; YASREBI, M.; SAMII, J.; STAIB, L. H.; DODDAMANE, I.; CHENG, D. W. The Utility of I-123 Pretherapy Scan in I-131 Radioiodine Therapy for Thyroid Cancer. *Thyroid Rad Nucl Med.* v. 22, n. 3, p. 304 - 309, 2012.
13. COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (Orgs.). *Fundamentos de Cromatografia*. Campinas: Editora da Unicamp. 2010.
14. CORDEIRO, E. A. K.; MARTINI, J. G. Perfil dos pacientes com câncer de tireoide submetidos à radioterapia. *Text Context Nursing.* v. 22, n. 4, p. 1007- 1014, 2013.
15. DAYAN, C. M.; PANICKER, V. Novel insights into thyroid hormones from the study of common genetic variation. *Nat Rev Endocrinol.* v. 5, p. 211-218, 2009.
16. EUROPEAN PHARMACOPEIA 10th Ed, Council of Europe. Strasbourg: EDQM, 2022. p. 578.
17. FARIA, D. P.; MARQUES, F. L. N.; YAMADA, A. S.; MIQUELIN, C. A. Avaliação dos custos para realização de controles de qualidade de radiofármacos marcados com [ 99mTc] tecnécio em serviços de medicina nuclear no Brasil. *Radiol Bras.* v. 44, n.1, p.47–51, 2011.
18. GARCEZ, A. T.; SILVA, A. A. R.; PAES, W. S. *Medicina Nuclear*. E-book. São Paulo, 2017.
19. GARCIA, I.; ORTIZ, M. C.; SARABIA, L.; VILCHES, C.; GREDILLA, E. Advances in methodology for the validation of methods according to the international organization for standardization application to the determination of benzoic and sorbic acids in soft drinks by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A.* v. 992, p. 11-27, 2003.
20. GIL, E. *Controle físico-químico de qualidade de medicamentos*. 3º edição. São Paulo: Pharmabooks. p. 103-104. 2007.
21. GOLBERT, L.; WAJNER, S. M.; ROCHA, A. P.; MAIA, A. L.; GROSS, J. L. *Carcinoma Diferenciado de Tireóide: Avaliação Inicial e Acompanhamento*. *Arq Bras Endocrinol Metab.* v. 49, n. 5, p. 701 - 710, 2005.
22. HALL, J. E. *Tratado de Fisiologia Médica [recurso eletrônico]*. 12ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
23. HAUGEN, B. R.; ALEXANDER, E. K.; BIBLE, K. C.; DOHERTY, G. M.; MANDEL, S. J.; NIKIFOROV, Y. E.; PACINI, F.; RANDOLPH, G. W.; SAWKA, A. M.; SCHLUMBERGER, M.; SCHUFF, K. G.; SHERMAN, S. I.; SOSA, J. A.; STEWARD, D. L.; TUTTLE, R. M.; WARTOFISKY, L. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid and Differentiated Thyroid Cancer. *Rev. Thyroid*, v. 26, n. 1, p. 1 - 133, 2016.
24. HOFF, P. M. G. *et al.*, *Tratado de Oncologia*. São Paulo: Atheneu, 2013.
25. INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES. **Sobre o Ipen**. Disponível em: <http://www.ipen.br>. Acesso em 06 de jul. 2022.

26. IOD-IPEN-123. [Bula]. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) – Centro de Radiofarmácia. Elaine Bortoleti de Araújo.
27. IOD-IPEN-131. [Bula]. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) – Centro de Radiofarmácia. Elaine Bortoleti de Araújo.
28. KATSUNG, B. G. TREVOR, A. J. Farmacologia Básica e Clínica. 13ª Edição. Porto Alegre: AMGH, 2017.
29. KUBO, H.; LEAL, T. P.; BRUDER, C.; BERTOLO, C. A.; ORTOLANI, C. L. F.; TAKEI, V. L. F. Disfunção da glândula tireoide e o tratamento ortodôntico: revisão integrativa da literatura. *Revista Uningá*. v. 55, n. 3, p.100 - 110, 2018.
30. LEITHA, T. Nuclear Medicine: Proof of Principle for Targeted Drugs in Diagnosis and Therapy. *Curr Pharm Des*. v. 15, n. 2, p. 173-187. jan. 2009.
31. LI, Z.; CONTI, P. S. Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. *Adv Drug Deliv Rev*. v. 62, n. 11, p. 1031-51, 2010.
32. LUIZ, L. C.; MONTEIRO, K. T. S.; BATISTA, R. T. Os aceleradores de partículas e sua utilização na produção de radiofármacos. *Rev. Bras. Farm*. v. 92, n. 3, p. 90-95, 2011.
33. MAIA, A. L.; SCHEFFEL, R. S.; MEYER, E. L. S.; MAZETO, G. M. F. S. CARVALHO, G. A. C.; GRAF, H.; VAISMAN, M.; MACIEL, L. M. Z.; RAMOS, H. E.; TINCANI, A. J.; ANDRADA, N. C.; WARD, L. S. Consenso brasileiro para o diagnóstico e tratamento do hipertireoidismo: recomendações do Departamento de Tireoide da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. *Arq Bras. End Metab*. v. 57, n. 3, p. 205 - 232, 2013.
34. MAIA, A. G. Econometria: conceitos e aplicações. Cap. 12, 2017.
35. MARTINS, A. M.; CAPELA, J. Carcinoma Medular da Tireoide – perspectiva após as guidelines de 2015 da ATA. *Rev Port Cir*. v. 43, p. 11-28, 2017.
36. MEDEIROS, G. Tudo o que você gostaria de saber sobre Câncer de Tireóide. São Paulo: Sambureau & Publicidade, 2005.
37. MENG, X.; HUA, T.; ZHANG, Q.; PANG, R.; ZHENG, G.; SONG, D. Expression and clinical significance of matrix metalloproteinase 9 (MMP9) papillary thyroid carcinomas. *Afr. J. Pharm. Pharmacol*. v. 6, n. 44, p. 3075-3079, 2012.
38. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 166, de 24 de julho de 2017, dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Disponível em: <[https://www.in.gov.br/materia//asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412](https://www.in.gov.br/materia//asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412)>. Acesso em: 09 fev. 2021.
39. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa – IN, N° 138, de 30 de março de 2022. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares às atividades de qualificação e validação. Disponível em: <

- <https://in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-138-de-30-de-marco-de-2022-389932120> >. Acesso em: 06 jul. 2022.
40. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 38, de 04 de junho de 2008, Dispõe sobre a instalação e o funcionamento de Serviços de Medicina Nuclear "in vivo". Disponível em: < [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2008/res0038\\_04\\_06\\_2008.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2008/res0038_04_06_2008.html)>. Acesso em: 28 fev. 2021.
41. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 658, de 30 de março de 2022, dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Disponível em: < <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-658-de-30-de-marco-de-2022-389846242> >. Acesso em: 25 de maio. 2022.
42. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 451, de 16 de dezembro de 2020, dispõe sobre registro, notificação, importação e controle de qualidade de radiofármacos. Disponível em: [http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3633045/%281%29RDC\\_451\\_2020\\_COMP.pdf/8ea248ee-fbb0-4e16-9f78-015f580ee6be](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3633045/%281%29RDC_451_2020_COMP.pdf/8ea248ee-fbb0-4e16-9f78-015f580ee6be).
43. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 263, de 04 de fevereiro de 2019, dispõe sobre o registro de medicamentos radiofármacos de uso consagrado fabricados em território nacional e sobre a alteração da Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 64, de 18 de dezembro de 2009, que dispõe sobre o registro de Radiofármacos. Disponível em: [https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/61985976/do1-2019-02-05-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-263-de-4-de-fevereiro-de-2019-61985690](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/61985976/do1-2019-02-05-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-263-de-4-de-fevereiro-de-2019-61985690). Acesso em: 25 mai. 2022.
44. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa – IN nº 128, de 30 de março de 2022, dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares a Medicamentos Radiofármacos. Disponível em: <https://in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-128-de-30-de-marco-de-2022-389839399>>. Acesso em: 25 mai. 2022.
45. MOULD, R. F. Pierre Curie, 1859–1906. *Curr Oncol.* v. 14, n. 2, 2007.
46. NEUBAUER, S.G. Medicina Nuclear e Imágenes Moleculares. *Rev.Med. Clin. Condes*, v. 24, n. 2, p. 324-336, 2013.
47. NOVALES, P. S.; MANSANET, M. C. P.; CARSI, C. M.; MONFORTE, R. S. Medicina Nuclear y Radiofarmacos. *Rev. Radiologia*, v. 56, n. 1, p. 29-37, 2014.

48. NUNES, M. T. Hormônios Tiroideanos: Mecanismo de Ação e Importância Biológica. Arq Bras Endocrinol Metab. v. 47, n.6, 2003.
49. Novruzova, F.; Aliyev, J. A.; Allahverdiyeva, Z.; Mehdi, E.; Giammarile, F. Positive effect of Actinium 225-PSMA treatment on ECOG performance status: A case report on a patient with castration resistant stage IV prostate carcinoma. Rev Esp Med Nuclear Imagem. V. 38, n. 4. P. 260-261, 2019.
50. OLIVEIRA, H. B. Modelos analíticos para o desenvolvimento de alvos metálicos de alta performance irradiados nos ciclotrons Cyclone 30 e Cyclone 18 do IPEN-CNEN/SP. 194 fls. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85131/tde-22092011-095307/publico/2009OliveiraModelos.pdf>>. 17/08/2022.
51. OLIVEIRA, R.; SANTOS, D.; FERREIRA, D.; COELHO, P.; VEIGA, F. Preparações radiofarmacêuticas e suas aplicações. Ver. Bras. Ciên. Farm. v. 42, n. 2, p. 151 - 165, 2006.
52. POZZO, L.; FILHO, G. C.; JÚNIOR, J. A. O.; SQUAIR, P. L. O SUS na medicina nuclear do Brasil: avaliação e comparação dos dados fornecidos pelo Datasus e CNEN. Radiol Bras. v. 47, n. 3, p. 141-148, 2014.
53. ROSÁRIO, P. W.; WARD, L. S.; CARVALHO, G. A.; GRAF, H.; MACIEL, R. M. B.; MACIEL, L. M. Z.; MAIA, A. L.; VAISMAN, M. Nódulo tireoidiano e Câncer diferenciado de tireoide: atualização do consenso brasileiro. Arq. Bras. Endocrinol. Metabol., v. 57, n. 4, p. 240-264, 2013.
54. SALES, P.; HALPERN, A.; CERCATO, C. O essencial em endocrinologia. 1ª Edição. Rio de Janeiro: Roca, 2017.
55. SAHA, G. B., Fundamentals of Nuclear Pharmacy. 6th. ed. Cleveland: Springer, 410p, 2010.
56. SILBERSTEIN, E. B.; ALAVI, A.; BALON, H. R.; CLARKE, S. E. M.; DIVGI, C.; GELFAND, M. J.; GOLDSMITH, S. J.; JADVAR, H.; MARCUS, C. S.; MARTIN, W. H.; PARKER, J. A.; ROYAL, H. D.; SARKAR, S. D.; STABIN, M.; WAXMAN, A. D. The SNM Practice Guideline for Therapy of Thyroid Disease with <sup>131</sup>I 3.0. Jour Nucl Med. v. 53, n. 10, p. 1633 - 1651, 2012.
57. SOARES, G. V. D.; SOARES, C. V. D.; MEDEIROS, T. K. F.; SANTOS, E. B. Distúrbios fisiológicos relacionados à glândula tireoide: uma revisão literária. Res, Soc Dev. v. 9, n. 7, p. 1 - 11, 2020.
58. SUMIYA, L. C. DO AMARAL. Estudo de parâmetro relevantes na irradiação de <sup>124</sup>Xe, visando a otimização na obtenção de <sup>123</sup>I ultrapuro no ciclotron Cyclone -30 do IPEN-CNEN/SP. 96 fls. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear –

- Aplicações), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em < file:///C:/Users/Alide/Downloads/LuizCarlosASumiya%20(3).pdf>. 17/08/2022.
59. TAUHATA, L.; SALATI, I.; DI PRINZIO, R.; DI PRINZIO, M. A. R. R. Radioproteção e Dosimetria: Fundamentos. Comissão Nacional de Energia Atômica. Rio de Janeiro, 2014.
  60. TAVARES, J. A. L.; SANTOS, M. A. P.; LIRA, R. F. Avaliação do controle de qualidade de radiofármacos em serviço de medicina nuclear. Braz J. Rad. Sci. v. 03, n. 1A, p. 01-08, 2015.
  61. TOYOKUNI T.; KUMAR J. S. D.; GUNAWAN P.; BASARAH E. S.; LIU J.; BARRIO J.R.; SATYAMURTHY, N. Practical and Reliable Synthesis of 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2- O-trifluoromethanesulfonyl- -D-mannopyranose, a Precursor of 2-Deoxy-2-[18F]fluoroD-glucose (FDG). Molecular Imaging and Biology. v. 6, p. 324-330, 2004.
  62. VERMEULEN, K.; VANDAMME, M.; BORMANS, G.; CLEEREN, F. Design and Challenges of Radiopharmaceuticals. Semin Nucl Med. v. 49, p. 339 - 356, 2019.
  63. VIEIRA, L. O.; KUBO, R.; SAPIENZA, M. T.; WILLEGAINON, J.; CHAMMAS, M. C.; COURA-FILHO, G. B.; ONO, C. R.; Watanabe, T.; Sado, H. N.; Buchpiguel, C. A. Correlação entre volume tireoidiano determinado pelo método de ultrassonografia versus cintilografia e sua implicação em cálculos dosimétricos na terapia com radioiodo na doença de Graves. Arq Bras Endocrinol Metab. v. 55, n. 9, p. 696 - 700, 2011.
  64. XAVIER, A. M.; LIMA, A.G.; VIGNA, C. R. M.; VERBI, F. M.; BORTOLETO, G. G.; GORAIEB, K.; COLLINS, C. H.; BUENO, M. I. M. S. Marcos da história da radioatividade e tendências atuais. Quim. Nova. vol. 30, n. 1, 83-91, 2007.
  65. ZIESSMAN, H. A.; MALLEY, J. P.; THRALL, J. H.; FAHEY, F. H. Medicina Nuclear. 4. ed. - Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

## Anexo 1

### Fórmulas utilizadas

Foram utilizadas as fórmulas a seguir para a realização dos cálculos, a partir dos resultados em contagem por minuto (cpm), do contador gama:

#### a. Fator de retardamento (Rf)

$$Rf = \frac{\text{distância percorrida pela amostra}}{\text{distância percorrida pelo solvente}} = \frac{\Sigma (\text{Seg 6} - \text{seg10})}{\Sigma (\text{Seg 1} \dots \text{seg10})}$$

Onde:

Seg = Seguimento da contagem por minuto na parte correspondente da fita cromatográfica

$\Sigma$  = somatória da contagem total (contagem por minuto correspondente ao total da fita cromatográfica - segmento 1 ao 10)

#### b. Pureza Radioquímica

$$\% PR = \frac{\Sigma (\text{Seg 6} - \text{seg10})}{\Sigma (\text{Seg 1} \dots \text{seg10})} \times 100$$

Onde:

% PR = pureza radioquímica no radiofármaco expressa em porcentagem

Seg = Seguimento da contagem por minuto na parte correspondente da fita cromatográfica

$\Sigma$  = somatória da contagem total (contagem por minuto correspondente ao total da fita cromatográfica - segmento 1 ao 10)

#### c. Desvio padrão

$$DP = \sqrt{\frac{\Sigma(x_i - \text{média}_x)^2}{n - 1}}$$

Onde:

DP= Desvio Padrão

$x_i$  = é o resultado de uma determinada medição

$\text{média}_x$  = a média aritmética dos "n"

n= número de medições

DP= Desvio Padrão

#### d. Desvio padrão Relativo

$$DPR = \frac{DP}{MD} \times 100$$

Onde:

DP = Desvio padrão

MD = Média das leituras

**Nota:** O resultado DP entre os resultados deverá ser  $\leq 5,0\%$ .

#### e. Efeito das variáveis

$$Ev = \frac{\Sigma \text{resultados (R1, R2, R3)}}{m} - \frac{\Sigma \text{resultados (R2, R3)}}{m}$$

Onde:

$E_v$  = efeito da variável

$R_1, R_2$  e  $R_3$  = resultados analíticos correspondentes aos experimentos que contemplam o fator identificado pela letra maiúscula

$R_1, R_2$  e  $R_3$  = resultados analíticos correspondentes aos experimentos que contemplam o fator identificado pela letra minúscula

$m$  = metade do número de experimentos

#### f. Variância

$$V = \frac{(L1 - M)^2 + (L2 - M)^2 + (L3 - M)^2 + (L4 - M)^2 + (L5 - M)^2 + (Ln - M)^2}{n - 1}$$

$$DP = \sqrt{V}$$

Onde:

$L$  = Leitura

$M$  = Média das leituras

$n$  = número de medições

$V$  = Variância

$DP$  = Desvio Padrão



## Anexo 2 (Cálculos)

### 1. Precisão

#### A. Repetibilidade

Demonstração dos cálculos utilizados:
<p><b>Amostra 1</b></p> $(6029 + 10029 + 359064 + 1571794 + 383284) = 2330200$ $(1944 + 1764 + 2379 + 2109 + 3154 + 6029 + 10029 + 359064 + 1571794 + 383284) = 2341550$ $\text{PRQ} = 2330200/2341550 \times 100 \rightarrow 0,995152783 \times 100 = 99,51$ <p>Pureza Radioquímica (%): 99,51%</p>
<p><b>Amostra 2</b></p> $(3629 + 5209 + 55164 + 1433909 + 794824) = 2292735$ $(1599 + 1264 + 2314 + 2229 + 2259 + 3629 + 5209 + 55164 + 1433909 + 794824) = 2302400$ $\text{PRQ} = 2292735/2302400 \times 100 \rightarrow 0,995802206 \times 100 = 99,58$ <p>Pureza Radioquímica (%): 99,58%</p>
<p><b>Amostra 3</b></p> $(3494 + 6539 + 119414 + 1258874 + 802574) = 2190895$ $(704 + 1379 + 2754 + 2149 + 3074 + 3494 + 6539 + 119414 + 1258874 + 802574) = 2200955$ $\text{PRQ} = 2190895/2200955 \times 100 \rightarrow 0,995429257 \times 100 = 99,54$ <p>Pureza Radioquímica (%): 99,54%</p>
<p><b>Amostra 4</b></p> $(4209 + 16769 + 266549 + 1576664 + 601599) = 2465790$ $(2004 + 1329 + 1769 + 1759 + 2289 + 4209 + 16769 + 266549 + 1576664 + 601599) = 2474940$ $\text{PRQ} = 2465790/2474940 \times 100 \rightarrow 0,996302941 \times 100 = 99,63$ <p>Pureza Radioquímica (%): 99,63%</p>
<p><b>Amostra 5</b></p> $(3309 + 6784 + 195404 + 1529649 + 401384) = 2136530$ $(1849 + 1039 + 4394 + 2644 + 2769 + 3309 + 6784 + 195404 + 1529649 + 401384) = 2149225$ $\text{PRQ} = 2136530/2149225 \times 100 \rightarrow 0,99409322 \times 100 = 99,40$ <p>Pureza Radioquímica (%): 99,40%</p>
<p><b>Amostra 6</b></p> $(3674 + 12929 + 230684 + 1629194 + 526249) = 2402730$ $(2004 + 1724 + 2464 + 2779 + 2774 + 3674 + 12929 + 230684 + 1629194 + 526249) = 2414475$ $\text{PRQ} = 2402730/2414475 \times 100 \rightarrow 0,995135588 \times 100 = 99,51$ <p>Pureza Radioquímica (%): 99,51%</p>

#### B. Precisão intermediária

Demonstração dos cálculos utilizados:
---------------------------------------

<p>Amostra 1</p> $(6134 + 12229 + 291624 + 2589720 + 375924) = 3275631$ $(2609 + 1904 + 4094 + 3059 + 3954 + 6134 + 12229 + 291624 + 2589720 + 375924) = 3291251$ $PRQ = 3275631/3291251 \times 100 \rightarrow 0,995254084 \times 100 = 99,52$ Pureza Radioquímica (%): 99,52%
<p>Amostra 2</p> $(6094 + 12934 + 266989 + 2002529 + 847064) = 3135610$ $(2854 + 1774 + 4159 + 3074 + 3699 + 6094 + 12934 + 266989 + 2002529 + 847064) = 3151170$ $PRQ = 3135610/3151170 \times 100 \rightarrow 0,995062152 \times 100 = 99,50$ Pureza Radioquímica (%): 99,50%
<p>Amostra 3</p> $(5144 + 21074 + 602314 + 2409295 + 310799) = 3348626$ $(2639 + 2064 + 2764 + 3324 + 3554 + 5144 + 21074 + 602314 + 2409295 + 310799) = 3362971$ $PRQ = 3348626/3362971 \times 100 \rightarrow 0,995734426 \times 100 = 99,57$ Pureza Radioquímica (%): 99,57%
<p>Amostra 4</p> $(8234 + 10759 + 67284 + 1925959 + 651229) = 2663465$ $(2694 + 1514 + 3129 + 3564 + 3764 + 8234 + 10759 + 67284 + 1925959 + 651229) = 2678130$ $PRQ = 2663465/2678130 \times 100 \rightarrow 0,994524164 \times 100 = 99,45$ Pureza Radioquímica (%): 99,45%
<p>Amostra 5</p> $(4339 + 6689 + 37924 + 1130394 + 1213334) = 2392680$ $(2619 + 1674 + 3679 + 2739 + 2944 + 4339 + 6689 + 37924 + 1130394 + 1213334) = 2406335$ $PRQ = 2392680/2406335 \times 100 \rightarrow 0,994325395 \times 100 = 99,43$ Pureza Radioquímica (%): 99,43%
<p>Amostra 6</p> $(6104 + 25004 + 544399 + 2419465 + 235569) = 3230541$ $(2759 + 2144 + 3559 + 2994 + 3344 + 6104 + 25004 + 544399 + 2419465 + 235569) = 3245341$ $PRQ = 3230541/3245341 \times 100 \rightarrow 0,995439616 \times 100 = 99,54$ Pureza Radioquímica (%): 99,54%

### Resultados

Analista	Média (% PRQ)	DPR
1	99,53	0,021
2	99,50	

## 2. Robustez

A + B	Cont. Seg 6 ao 10			Cont. Seg 1 ao 10			PRQ (%)		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
	4598357	4555397	4357062	4613827	4576427	4370692	99,66	99,54	99,68
<b>Média</b>							<b>99,63</b>		

A + b	Cont. Seg 6 ao 10			Cont. Seg 1 ao 10			PRQ (%)		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
	1849522	1886407	2271127	1857127	1894527	2280547	99,59	99,57	99,58
<b>Média</b>							<b>99,58</b>		

a + B	Cont. Seg 6 ao 10			Cont. Seg 1 ao 10			PRQ (%)		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
	2411602	2028422	2171117	2419992	2035027	2178572	99,65	99,67	99,65
<b>Média</b>							<b>99,66</b>		

Demonstração dos cálculos utilizados:

**Amostra A + B**

Cont. Seg 6 ao 10 / Seg 1 ao 10

A1:  $4598357 / 4613827 \times 100 = 99,66$

A2:  $4555397 / 4576427 \times 100 = 99,54$

A3:  $4357062 / 4370692 \times 100 = 99,68$

**Amostra A + b**

Cont. Seg 6 ao 10 / Seg 1 ao 10

A1:  $1849522 / 1857127 \times 100 = 99,59$

A2:  $1886407 / 1894527 \times 100 = 99,57$

A3:  $2271127 / 2280547 \times 100 = 99,58$

**Amostra a + B**

Cont. Seg 6 ao 10 / Seg 1 ao 10

A1:  $2411602 / 2419992 \times 100 = 99,65$

A2:  $2028422 / 2035027 \times 100 = 99,67$

A3:  $2171117 / 2178572 \times 100 = 99,65$

**Condições das variáveis**

Variável		Experimentos		
		1	2	3
A	a	A	A	a

B	b	B	b	B
Resultados		R1 (99,63)	R2 (99,58)	R3 (99,66)

Demonstração dos cálculos utilizados por experimento:

$$Ev = \frac{\sum \text{resultados (R1, R2, R3)}}{m} - \frac{\sum \text{resultados (R2,R3)}}{m}$$

$$Ev = \frac{(99,63 + 99,58 + 99,66)}{4,5} - \frac{(99,58 + 99,66)}{3}$$

$$\frac{298,87}{4,5} - \frac{199,24}{3} = 66,4155 - 66,4133 = \mathbf{0,0022}$$

$$Ev = \mathbf{0,0022}$$

### 3. Linearidade

Demonstração dos cálculos utilizados:

Diluição 1 (0,05)

1. 50 µL - 153 µCi
2. Volume de NaOH 3010 µL + 50 µL amostra = 3060 µL
3. C = 153/3060 = 0,05

Concentração radioativa (%): 0,05 µCi/µL

Diluição 2 (0,1)

1. 50 µL - 153 µCi
2. Volume de NaOH 1480 µL + 50 µL amostra = 1530 µL
3. C = 153/1530 = 0,1

Concentração radioativa (%): 0,1 µCi/µL

Diluição 3 (0,5)

1. 50 µL - 151 µCi
2. Volume de NaOH 252 µL + 50 µL amostra = 302 µL
3. C = 151/302 = 0,5

Concentração radioativa (%): 0,5 µCi/µL

Diluição 4 (a partir da concentração 1,0 µCi/µL)

1. 50 µL - 152 µCi
2. Volume de NaOH 140 µL + 50 µL amostra = 190 µL
3. C = 152/190 = 0,8

Concentração radioativa (%): 0,8 µCi/µL

Diluição 5 (a partir da amostra de IOD-IPEN-123)

1. 50 µL - 154 µCi
2. Volume de NaOH 104 µL + 50 µL amostra = 154 µL
3. C = 154/154 = 1,0

Concentração radioativa (%): 1,0 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$
Diluição 6 (a partir da amostra padrão de IOD-IPEN-123)
1. 50 $\mu\text{L}$ - 153 $\mu\text{Ci}$
2. Volume de NaOH 77,5 $\mu\text{L}$ + 50 $\mu\text{L}$ amostra = 127,5 $\mu\text{L}$
3. $C = 153/127,5 = 1,2$
Concentração radioativa (%): 1,2 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$

#### 4. Seletividade

Demonstração dos cálculos utilizados:
<p><b>Solução 2 (NaOH 0,02 N)</b></p> <p>0,008g de NaOH em 10 mL (0,01L) de água purificada, de acordo com a equação abaixo:</p> $C = \frac{m/mol}{v} = \frac{0,008/40}{0,01} = 0,02 \text{ N}$
<p><b>Solução Teste 1 (IOD-IPEN-123 + NaOH 0,01 N)</b></p> <p>Cont. Seg 6 ao 10 / Seg 1 ao 10</p> <p>Fita 1: 2457740/ 2465016 = 0,997048</p> <p>Fita 2: 2327806 / 2343217 = 0,993423</p> <p>Fita 3: 2362056 / 2377727 = 0,993409</p> <p><b>Média:</b> <math>\frac{0,997048 + 0,993423 + 0,993409}{3} = 0,9934</math></p>
<p><b>Solução Teste 2 (IOD-IPEN-123 + NaOH 0,02 N)</b></p> <p>Cont. Seg 6 ao 10 / Seg 1 ao 10</p> <p>Fita 1: 2327221/ 2340407 = 0,994366</p> <p>Fita 2: 2355406 / 2364772= 0,996039</p> <p>Fita 3: 2324076/ 2334932 = 0,995351</p> <p><b>Média:</b> <math>\frac{0,994366 + 0,996039 + 0,995351}{3} = 0,9953</math></p>
<p><b>Solução Teste 3 (Solução 1 + Solução 2)</b></p> <p>Cont. Seg 6 ao 10 / Seg 1 ao 10</p> <p>Fita 1: 2376026 / 2386772= 0,995498</p> <p>Fita 2: 2418761 / 2427527= 0,996389</p> <p>Fita 3: 2497820/ 2506221 = 0,996648</p> <p><b>Média:</b> <math>\frac{0,995498 + 0,996389 + 0,996648}{3} = 0,9962</math></p>

---

---

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000  
Fone (11) 2810-1570 ou (11) 2810-1572  
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil  
<http://mprofissional.ipen.br>

**O Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento Econômico do Governo do Estado de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), órgão do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI) do Governo Federal.**

---

---