



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

**OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE MARCAÇÃO DO
CLORIDRATO DE N-ISOPROPIL-p-iodoANFETAMINA (IMP)
COM RADIOIODO. ESTUDOS DE DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA**

MARIA TEREZA COLTURATO

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

Orientadora:
Dra. Olga Gonçalves de Carvalho

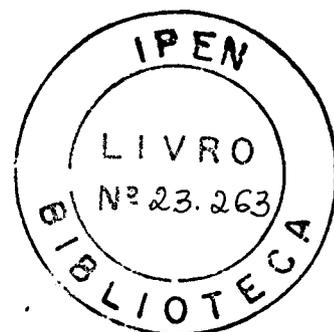
**São Paulo
2000**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE MARCAÇÃO DO
CLORIDRATO DE N-ISOPROPIL-p-iodoanfetamina (IMP)
COM RADIOIODO. ESTUDOS DE DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA**

MARIA TEREZA COLTURATO



Dissertação apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em Ciências na Área de
Ciência e Tecnologia Nuclear – Aplicações

ORIENTADORA:

Dra. OLGA GONÇALVES DE CARVALHO

SÃO PAULO

2000

*Ao Criador do Universo,
À sabedoria e humildade do SER*

*Aos meus pais,
Ao amor e respeito pelo SER*

*Aos meus irmãos, cunhados, sobrinhos
e amigos,*

*Ao apoio, compreensão e incentivo
de SER e ESTAR*

AGRADECIMENTOS

- ❖ Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP) nas pessoas do Superintendente Dr. Claudio Rodrigues e Dr Roberto Fulfaro Diretor do Departamento de Tecnologia de Aplicações Nucleares.
- ❖ À Dra. Constanca Pagano Gonçalves da Silva, chefe do Centro de Radiofarmácia, pela oportunidade concedida.
- ❖ À Dra. Nilda P. S. de Pereira, chefe da Divisão da Garantia da Qualidade do Centro de Radiofarmácia e Jair Mengatti, chefe da Divisão de Produção do Centro de Radiofarmácia, pelas facilidades oferecidas.
- ❖ À Dra. Olga Gonçalves de Carvalho, pela orientação, apoio e sugestões durante o decorrer desta dissertação.
- ❖ À Dra. Emiko Muramoto, pelo apoio e colaboração fornecida na realização da distribuição biológica do produto e, sugestões dadas na fase de dissertação deste trabalho.
- ❖ À Dra. Elaine Bortoletti de Araújo, pelas sugestões e colaboração dada ao trabalho.
- ❖ Ao Dr. Marcos Moises Gonçalves, pelo apoio e sugestões dadas, na elaboração das análises físico-químicas realizadas com o produto.
- ❖ Ao Dr. João Osso, pelo apoio e colaboração fornecida a este trabalho.
- ❖ Aos técnicos José Antônio Trindade Pires, Ananias Fagundes Dias, Filomena Lúcia Rabelo e Renato Brito, pelo apoio no decorrer deste trabalho.

- ❖ Aos pesquisadores, técnicos e secretárias do Centro de Radiofarmácia que apoiaram durante a realização deste trabalho.

- ❖ Ao Centro de Medicina Nuclear, na pessoa dos pesquisadores Miriam Roseli Yoshie Okamoto e Fabio Luís Navarro Marques, pela colaboração prestada na realização das imagens cintilográficas deste trabalho.

SUMÁRIO

	PÁGINAS
RESUMO	1
ABSTRACT	3
1 – INTRODUÇÃO	6
1.1 – ESTUDO DAS FUNÇÕES CEREBRAIS NA MEDICINA	6
1.2 – DESENVOLVIMENTO DE COMPOSTOS UTILIZADOS EM MEDICINA NUCLEAR PARA AVALIAÇÃO DAS FUNÇÕES CEREBRAIS	8
1.3 – DESENVOLVIMENTO DE RADIOFÁRMACOS AMÍNICOS UTILIZADOS NA AVALIAÇÃO DE FUNÇÕES CEREBRAIS ...	12
1.4 – ESTUDO DA TÉCNICA DE MARCAÇÃO DO IMP COM IODO RADIOATIVO	20
1.5 – ENSAIO DE TOLERÂNCIA TOXICOLÓGICA EM RADIOFÁRMACOS	23
2 – OBJETIVO	26
3 – MATERIAIS E MÉTODOS	28

	PÁGINAS
3.1 – MATERIAIS	28
3.1.1 – Reagentes e Soluções	28
3.1.2 – Equipamentos	29
3.1.3 – Outros	31
3.1.4 – Animais	32
3.2 – MÉTODOS	32
3.2.1 – Análises Químicas do Cloridrato de N-isopropil-p-iodoanfetamina (IMP)	32
3.2.1.1 – Análises Físico-Químicas	32
A) Ponto de Fusão (PF)	32
B) Espectrofotometria na Região do Infravermelho (IV)	33
C) Espectroscopia de Ressonância Nuclear Magnética (RNM)	33
D) Análise Elementar	33
3.2.1.2 – Análises em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	34
3.2.2 – Método de Marcação do IMP com Iodo Radioativo	35
3.2.3 – Métodos Utilizados na Avaliação da Pureza Radioquímica do IMP-¹³¹I	35

3.2.3.1 – Cromatografia de Adsorção (Silica Gel) e Partição (Papel Whatman) em Sistema Ascendente	36
3.2.3.2 – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	37
3.2.4 – Estudo de Otimização dos Parâmetros de Marcação do IMP com Iodo-131	37
3.2.4.1 – Parâmetros Avaliados	37
3.2.4.2 – Estabilidade do IMP- ¹³¹ I em Função da Relação Massa de IMP (mg) pela Atividade de Na ¹³¹ I (MBq) (Relação Massa/Atividade).....	39
3.2.5 – Estudos Biológicos do IMP Marcado com Radioiodo	40
3.2.5.1 – Distribuição Biológica do IMP- ¹³¹ I em Animal de Pequeno Porte	40
3.2.5.2 – Estudo de Captação de Corpo Inteiro do IMP- ¹³¹ I em Animal de Pequeno Porte	42
3.2.5.3 – Estudo <i>in vitro</i> para Determinação da Porcentagem de Ligação do IMP- ¹³¹ I às Proteínas Plasmáticas em Animal de Pequeno Porte	43
3.2.5.4 – Estudo Radiofarmacocinético do IMP- ¹³¹ I em Animal de Pequeno Porte	44
3.2.5.5 – Estudo de Imagens Cintilográficas do IMP- ¹²³ I em Animal de Médio Porte	47
3.2.5.6 – Ensaio de Segurança Toxicológica do IMP- ¹³¹ I em Animal de Pequeno Porte	48
4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES	51
4.1 – ANÁLISES QUÍMICAS DO CLORIDRATO DE N-ISOPROPIL-p-IODOANFETAMINA (IMP)	51

	PÁGINAS
4.1.1 – Análises Físico-Químicas	51
A) Ponto de Fusão (PF) e Análise Elementar	51
B) Espectrofotometria na Região do Infravermelho (IV) .	52
C) Espectroscopia de Ressonância Nuclear Magnética (RNM)	53
4.1.2 – Análises em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	59
4.2 – MÉTODOS UTILIZADOS NA AVALIAÇÃO DA PUREZA RADIOQUÍMICA DO IMP-¹³¹I	62
4.2.1 – Cromatografia de Partição (Papel Whatman) em Sistema Ascendente	62
4.2.2 – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	64
4.3 – ESTUDO DE OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE MARCAÇÃO DO IMP COM IODO-131	66
4.3.1 – Parâmetros Avaliados	66
4.3.1.1 – Temperatura de Reação (°C)	66
4.3.1.2 – Tempo de Reação (minutos)	68
4.3.1.3 – Massa de Ácido Ascórbico (mg/μL)	69
4.3.1.4 – pH Final de Reação	70
4.3.1.5 – Relação Massa de IMP (mg) pela Atividade de Na¹³¹I (MBq) (Relação Massa/Atividade)	70

	PÁGINAS
4.3.2 – Estabilidade do IMP- ¹³¹ I em Função da Relação Massa de IMP (mg) pela Atividade de Na ¹³¹ I (MBq)	71
4.4 – ESTUDOS BIOLÓGICOS DO IMP MARCADO COM RADIOIODO	74
4.4.1 – Distribuição Biológica do IMP- ¹³¹ I em Animal de Pequeno Porte	74
4.4.2 – Estudo de Captação de Corpo Inteiro do IMP- ¹³¹ I em Animal de Pequeno Porte	83
4.4.3 – Estudo <i>In Vitro</i> para Determinação da Porcentagem de Ligação do IMP- ¹³¹ I às Proteínas Plasmáticas em Animal de Pequeno Porte	84
4.4.4 – Estudo Radiofarmacocinético do IMP- ¹³¹ I em Animal de Pequeno Porte	85
4.4.5 – Estudo de Imagens Cintilográficas do IMP- ¹²³ I realizado em Animal de Médio Porte	88
4.4.6 – Ensaio de Segurança Toxicológica do IMP- ¹³¹ I em Animal de Pequeno Porte	90
5 – CONCLUSÕES	92
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94

“OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE MARCAÇÃO DO CLORIDRATO DE N-ISOPROPIL-p-IODOANFETAMINA (IMP) COM RADIOIODO. ESTUDOS DE DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA”

Maria Tereza Colturato

RESUMO

O desenvolvimento deste trabalho baseou-se no grande interesse da classe médica na utilização do cloridrato de N-isopropil-p-iodoanfetamina (IMP) marcado com iodo-123, para avaliação da perfusão cerebral.

O IMP foi inicialmente caracterizado por: Ponto de Fusão (PF), Espectrofotometria na região do Infravermelho (IV), Espectroscopia de Ressonância Nuclear Magnética (RNM), Análise Elementar e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Após a escolha da técnica adequada para marcação do IMP com iodo-131, que utilizou cobre I como agente redutor e ácido ascórbico como agente catalisador do cobre II (método de substituição nucleofílica isotópica), foram realizados estudos para otimização dos parâmetros de marcação do IMP-¹³¹I: temperatura de reação, tempo de reação, massa de ácido ascórbico, pH da reação e relação massa de IMP/atividade de radioiodo (relação massa/atividade), concluindo com o estudo da estabilidade do produto em função da relação massa/atividade. O método de controle de qualidade (cromatografia ascendente em papel)

empregado para determinação da pureza radioquímica, mostrou ser preciso, eficiente, rápido e de fácil manuseio.

Em seguida realizou-se os seguintes estudos biológicos, injetando-se o radiofármaco por via venosa (veia da cauda) em animais de laboratório: estudo de distribuição biológica, estudo da captação de corpo inteiro; estudo *in vitro* para determinação da porcentagem de ligação às proteínas plasmáticas, estudo radiofarmacocinético e, ensaio de tolerância toxicológica, em camundongos. As imagens cintilográficas foram obtidas injetando-se o IMP-¹²³I, em coelho.

Os dados de distribuição biológica, captação de corpo inteiro, porcentagem de ligação às proteínas plasmáticas, ensaio de tolerância toxicológica e imagens cintilográficas, demonstraram a capacidade do composto em atravessar a barreira hematoencefálica intacta, permanecendo tempo suficiente para obtenção de imagem cintilográfica cerebral, inclusive, possibilitando um acompanhamento por um tempo mais prolongado em estudos tardios, após administração intravenosa do radiofármaco. Apesar da rápida distribuição, o IMP-¹³¹I mostrou ter uma depuração sanguínea relativamente lenta, com duas vias de eliminação, predominando a urinária.

Ao realizar o estudo cinético do IMP-¹³¹I, verificou-se que, ao submeter-se os dados das amostras sanguíneas obtidas na distribuição biológica, ao programa BIEXP.BAS, este apresentou um modelo, cujo perfil da curva de decaimento, foi de uma função bi-exponencial, a qual permitiu constatar que o composto apresentou: uma primeira fase rápida (distribuição) e, uma segunda lenta, correspondente ao equilíbrio e a eliminação.

Portanto, do ponto de vista de pureza radioquímica, estabilidade e comportamento biológico em animais de pequeno e médio porte, concluiu-se que o produto encontra-se em conformidade com as características exigidas de um radiofármaco indicado para aplicação em clínica médica na obtenção de imagens cintilográficas cerebrais.

“OPTIMIZATION OF LABELING CONDITIONS OF N-ISOPROPYL-p-IODOAMPHETAMINE CHLORIDATE (IMP) WITH RADIODINE. BIOLOGICAL DISTRIBUTION STUDIES”

Maria Tereza Colturato

ABSTRACT

The development of this work was based on a great interest from the medical community in the utilization of N-isopropyl-p-iodoamphetamine chloridate (IMP) labeled with ^{123}I , for brain perfusion avaluation.

The IMP was initially characterized by: Melting Point (MP), Infrared Spectrophotometry (IR), Nuclear Magnetic Ressonancy Spectrometry (NMR), Elemental Analysis and High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

After having chosen the ideal method (nucleophilic substitution) to label IMP with ^{131}I , that used Cu(I) as reducing agent and ascorbic acid as catalyzing of Cu(II), studies were performed to optimize the labeling parameters of ^{131}I -IMP: temperature reaction, time reaction, ascorbic acid mass, pH and molar ratio, and stability of the final product. The quality control method (ascending paper chromatographic) used to determine the radiochemistry purity showed to be efficient, fast and of easily handling for routine production.

Biological distribution studies were performed with laboratory animals (mice) to determine the percent administered dose in the blood, different organs and whole body after intravenous administration of the radiopharmaceutical. Toxicological evaluation and *in vitro* study to determine the plasmatic protein binding were also done.

The data of the biological distribution in mice have shown that the product crossed the intact blood brain barrier, for a enough time to obtain brain scintigraphic image, thus, allowing a follow up of further studies after the intravenous administration of the radiopharmaceutical. The ^{131}I -IMP showed a blood clearance and then the principal elimination route was the urinary.

The kinetic study of ^{131}I -IMP, submitting blood samples data to BIEXP.BAS program, showed a biexponential pattern which allowed demonstrating that the compound presents a first phase of quick distribution and a second one slower corresponding to the equilibrium and elimination.

Based on the results from radiochemical purity, stability and biological behavior in laboratory animals, we concluded that the studied radiopharmaceutical presents all the ideal characteristics for clinical use in brain studies in Nuclear Medicine.

*“Uma criança sempre pode ensinar três coisas a um adulto:
a ficar contente sem motivo;
a estar sempre ocupado com alguma coisa,
e a saber exigir, com toda força, aquilo que deseja”*

Paulo Coelho

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - ESTUDO DAS FUNÇÕES CEREBRAIS NA MEDICINA

O papel da Medicina Nuclear está cada vez mais fundamentado no uso diário de compostos para diagnosticar funções fisiológicas alteradas e tratamentos terapêuticos realizados pós-diagnóstico.

Com o avanço da Medicina, na tentativa de entender a base da estrutura celular e molecular das funções complexas e variadas do cérebro humano, e a extensa patologia a elas associadas, os exames clínicos convencionais passaram a fornecer poucas informações e, desta maneira, poucas respostas às necessidades apresentadas ^(18,44).

O crescimento da Medicina Nuclear e a sua associação à tecnologias cada vez mais avançadas, abriu novos caminhos que possibilitam compreensão mais detalhada da anatomia, da fisiologia e da química do Sistema Nervoso Central (SNC). Paralelamente é enorme o interesse demonstrado por parte dos pesquisadores em encontrar compostos com características específicas que avaliem minuciosamente quaisquer disfunções nas medições da fisiologia regional, em particular, o fluxo sanguíneo cerebral, o metabolismo da glicose e o consumo do oxigênio ^(18,44).

Embora, ainda não inteiramente definida em termos anatômicos, a barreira hematoencefálica intacta representa um importante limite entre os sistemas nervosos central e periférico, de tal forma que sua permeabilidade atua como uma barreira propriamente dita, permitindo ou não a passagem de substâncias da corrente sanguínea para várias regiões do SNC ^(10,18).

Diversificações estruturais nas membranas celulares sugerem a existência de diferentes vias para que um composto atravesse esta barreira. A difusão passiva ou livre, o transporte mediado por carregador (difusão facilitada) e o transporte ativo, são os tipos de processos utilizados pelos compostos ^(10,18,99).

No primeiro caso, o composto penetra por difusão passiva ou livre ao longo de um gradiente de concentração, baseado na solubilidade da camada dupla de lipídeos que faz parte dessa membrana. Essa transferência é diretamente proporcional ao gradiente de concentração através da membrana e ao coeficiente de partição lipídio:água do composto (lipossolúvel ou hidrossolúvel). Quanto maior o coeficiente de partição, mais elevada a concentração do composto na membrana e mais rápida a sua difusão. Esse transporte ocorre, em geral, para as moléculas lipossolúveis e não ionizadas ^(10,18,99).

Embora, a difusão passiva através da camada dupla esteja fundamentada, predominantemente, na absorção, para a maioria dos compostos, mecanismos mais ativos e seletivos podem desempenhar papéis importantes.

O transporte ativo envolve seletividade, energia, índice de saturação e movimento contra um gradiente eletroquímico (ex: composto na forma ionizada). O grau de ionização do composto está diretamente relacionado com a sua solubilidade. Portanto, para um composto, nessa condição, a absorção ocorre por transporte ativo e a sua distribuição dependerá de seu grau de ionização e o pH do meio. Geralmente, os compostos quando ionizados, ligam-se à receptores ⁽¹⁰⁾.

A difusão facilitada é descrita por um processo de transporte mediado por carregador, no qual, não há utilização de energia e, dessa maneira, o movimento do composto, não pode ocorrer contra um gradiente eletroquímico. Em geral, esse tipo de transporte é utilizado por compostos endógenos (ex: a glicose é transportada por proteínas carregadoras) cuja velocidade de movimento através das membranas por difusão passiva seria lenta demais ^(10,18,99).

É essencial, portanto, considerar os mecanismos pelos quais os compostos atravessam a membrana, suas propriedades físico-químicas e propriedades da membrana cerebral que influenciam nessa transferência. As características importantes para o

transporte de um composto são: tamanho (peso molecular), forma molecular (aspectos eletrônicos da molécula), grau de ionização (solubilidade e pH) e grau de lipossolubilidade (concentração fase orgânica e aquosa) ^(10,18,99).

Portanto, a formulação de um radiofármaco que se adeque bem, tanto anatômica como fisiologicamente, para estudo da perfusão cerebral, exige certas características físico-químicas específicas tais como: peso molecular (PM) pequeno, pH neutro, lipofilicidade elevada e estabilidade suficientemente longa.

1.2 - DESENVOLVIMENTO DE COMPOSTOS UTILIZADOS EM MEDICINA NUCLEAR PARA AVALIAÇÃO DAS FUNÇÕES CEREBRAIS

Atualmente, os Centros de Medicina Nuclear, encontram-se equipados com aparelhos de alta resolução e sensibilidade como: Tomógrafo Computadorizado por Emissão de Fóton Único (SPECT – Single Photon Emission Computer Tomography) e Tomógrafo por Emissão de Póstron (PET – Positron Emission Tomography).

Nos estudos de imagens cintilográficas cerebrais, existem vários radiofármacos que atuam como perfusórios e outros que interagem com os receptores locais.

Os radiofármacos que interagem com os receptores cerebrais, utilizados em SPECT e PET, permitem uma avaliação da atividade neuroquímica por meio da ligação radiofármaco:receptor específico do tipo: muscarínico, benzodiazepínico, serotoninérgico e dopaminérgico ⁽⁶⁾.

Os radiofármacos utilizados em PET marcados com emissores β^+ tais como o Oxigênio-15 (^{15}O), Nitrogênio-13 (^{13}N), Carbono-11 (^{11}C) e Fluor-18 (^{18}F) podem ser classificados em ^(10,47,99,100):

a) Receptores cerebrais:

- ◆ Receptor dopamínico: (3-N-[^{11}C]-metil)-espiperona; Espiroperidol- ^{18}F ; Haloperidol- ^{18}F ; N-(3-iodoprop-2E-enil)-2 β -carbometoxi-3 β -(4-metilfenil)nortropano- ^{11}C (PE2I- ^{11}C) ⁽⁸⁹⁾;
- ◆ Receptor opiáceo: Carfentamil- ^{11}C ;
- ◆ Receptor colinérgico: 1-benzil-4[(5,6-dimetoxi-1-oxoindan-2-il)metil]piperidina- ^{11}C ⁽²⁸⁾;
- ◆ Receptor serotoninérgico (5-HT₂): 1-(2,5-dimetoxi-4-iodofenil)-2-di- ^{11}C ⁽⁹⁰⁾; mono-metilamino-propano- ^{11}C ⁽¹⁰²⁾;
- ◆ Receptor serotoninérgico (5-HT_{1A}): [carbonil- ^{11}C]WAY-100635 (WAY) ⁽³⁷⁾.

b) Perfusores cerebrais: Fluorodeoxiglicose- ^{18}F (FDG- ^{18}F) ^(3,11,26,75,118); H₂ ^{15}O ; Metionina- ^{11}C ⁽²⁶⁾.

A classe médica apresenta pelo FDG- ^{18}F um interesse especial. Entretanto, devido ao alto custo na aquisição de Tomógrafos (PET) e/ou adaptação dos equipamentos (Câmaras de coincidência), com a inclusão de sistemas sofisticados de softwares ou hardwares para correção de atenuação, assim como, a meia-vida curta do ^{18}F , limitam sua distribuição em diferentes Centros de Medicina Nuclear ^(15,22,34,38,77,119,130).

Os radiofármacos utilizados em SPECT classificam-se em:

a) **Receptores cerebrais:**

- ◆ Receptor dopamínico (D_2/D_3): Epidepride- ^{123}I (19,67); L-6- ^{123}I -Iodo-m-Tirosina (32,66); TRODAT-1 [$^{99\text{m}}\text{Tc}$] (2).
- ◆ Receptor benzodiazepínico: etil-5,6-dihidro-7- ^{123}I -5-metil-6-oxo-4H-imidazo-[15a]-[1,4]-benzodiazepina-3-carboxilato (Ro 16-0154- ^{123}I) (17); Iomazenil- ^{123}I (IBZM- ^{123}I) (93,107); 3-(5-ciclopropil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-7-iodo-5,6-dihidro-5-metil-6-oxo-4H-imidazo[1,5-a][1,4]-benzodiazepina (NNC 13-8241) (62).
- ◆ Receptor serotoninico: álcool 5-iodo-2-[2-[(dimetilamino)metil]fenoxi]benzóico [ODAM- ^{123}I] (1).

b) **perfusórios cerebrais:** dentre os radiofármacos utilizados em SPECT, encontram-se os marcados com o Xenônio-133 (^{133}Xe), Tálcio-201 (^{201}Tl), Tecnécio-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) e Iodo-123 (^{123}I).

Por sua vez, os radifármacos perfusórios cerebrais podem ser utilizados nas investigações de infarto cerebral, associado a distribuição proporcional do fluxo sanguíneo regional, demência de múltiplo infarto e demência senil (doença de Alzheimer) e, doenças cerebrais, como, esquizofrenia e psicoses maniaco-depressivas (27,29,43,47,65,84,97,99,104,128,132).

O radioisótopo ^{133}Xe é um gás nobre, inerte, emissor gama ($E_\gamma = 81 \text{ keV}$) de meia-vida física ($t_{1/2}$) de 5,3 dias e, quando administrado por inalação, permite a medida do fluxo sanguíneo cerebral regional. Esse gás radioativo provou ter validade na investigação de doenças vasculares e psíquicas, entretanto, demonstrou que, além de ser um tanto caro, exige uma tecnologia tomográfica especialmente adequada, sem descartar a alta periculosidade, devido ao seu estado físico que, inevitavelmente, resultaria numa possível contaminação ambiental (50,72,99,114,125).

O ^{201}Tl tem um $t_{1/2} = 73,1$ horas e uma energia baixa relativa de fóton de 69-83 keV (97). O composto dietilditiocarbamato (DDC) marcado com ^{201}Tl (DDC- ^{201}Tl)

também foi proposto para estudo do fluxo sanguíneo cerebral, pois sua fixação no cérebro ocorre logo no primeiro minuto após injeção intravenosa. Apesar dessa vantagem, esse composto não foi introduzido como rotina em clínica médica, provavelmente, devido aos inconvenientes ao uso do ^{201}Tl , energia relativamente baixa e meia-vida relativamente longa⁽²⁷⁾.

O $^{99\text{m}}\text{Tc}$ é um radioisótopo com $t_{1/2} = 6,02$ horas, emissor gama puro com energia de 140 keV. Encontra-se na forma de gerador $^{99}\text{Mo}-^{99\text{m}}\text{Tc}$, onde pelo decaimento do pai (^{99}Mo) forma-se o elemento filho ($^{99\text{m}}\text{Tc}$)^(97,101). Após a percolação do gerador $^{99}\text{Mo}-^{99\text{m}}\text{Tc}$ com solução fisiológica, obtém-se o pertecnetato de sódio ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$), encontrando-se $^{99\text{m}}\text{Tc}$ na valência +7. Para complexá-lo às moléculas de um composto, necessita-se reduzi-lo a estados de valência inferiores e, para tal, faz-se uso de um agente redutor como por exemplo o cloreto estano (SnCl_2), ácido ascórbico, etc.

Os compostos complexados com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ existentes, tais como o ácido dietiltriainopentacético ($\text{DTPA}-^{99\text{m}}\text{Tc}$), pirofosfato de sódio ($\text{Piro}-^{99\text{m}}\text{Tc}$) e glucoheptonato de sódio ($\text{GHA}-^{99\text{m}}\text{Tc}$), utilizados em testes cintilográficos para mapeamento cerebral, não são capazes de cruzar a barreira hematoencefálica intacta para perfundir-se no tecido cerebral^(47,97,99,101). Tendo como objetivo a determinação do fluxo sanguíneo regional, os pesquisadores iniciaram estudos para o desenvolvimento de novos compostos marcados com $^{99\text{m}}\text{Tc}$, visando a obtenção de um composto lipofílico e neutro que atravessasse a barreira hematoencefálica intacta e que avaliasse a distribuição proporcional ao fluxo sanguíneo cerebral^(47,99).

Outro radionuclídeo, comumente empregado é o Iodo-123, devido as suas excelentes propriedades físicas, com $t_{1/2} = 13,2$ horas, emissor gama de 159 keV (83%) e ausência de partículas β^- .

Dentre os radiofármacos perfusórios utilizados em SPECT, observou-se que a presença de um grupamento químico que contribuía favoravelmente, era o amínico. Esses compostos amínicos são lipofílicos, difundem-se passivamente pela barreira hematoencefálica e são extraídos do cérebro na proporção do fluxo sanguíneo regional. A força motriz necessária para o composto lipofílico difundir-se pela barreira hematoencefálica, é controlada pela diferença de pH entre o sangue (pH = 7,4), meio

extracelular, e o tecido intracelular do cérebro (pH = 7,0). Uma vez que a amina (carregada positivamente) cruza a barreira, é aprisionada pelas bases fracas do meio intracelular, sendo ionizada, devido a diferença de pH existente entre os meios intracelular (relativamente ácido) e extracelular ^(10,18,47,70,99).

Por esta razão, as investigações foram direcionadas para a síntese de derivados das aminas simpatomiméticas, levando-se em conta o estudo da relação estrutura química:atividade biológica (REA) ⁽¹⁸⁾.

1.3 - DESENVOLVIMENTO DE RADIFÁRMACOS AMÍNICOS UTILIZADOS NA AVALIAÇÃO DE FUNCÕES CEREBRAIS

Há várias décadas, pesquisadores vem estudando a relação estrutura química:atividade biológica (REA) dos compostos, no sentido de obter-se fármacos com maior especificidade em seus sítios de ação ^(4,16,60,71).

Foram pesquisados e sintetizados vários compostos amínicos e pela determinação semi-quantitativa do fluxo hematoencefálico, foram selecionados os seguintes ⁽⁴⁷⁾:

a) Grupo das Cicloaminas:

- ◆ propilenoaminoxima (PnAO);
- ◆ hexametilpropilenoaminoxima (HMPAO)

b) Grupo dos Ciclodiaminoditiois:

- ◆ bis-aminoetanotiol (BAT);

- ◆ N-piperidiniletildiaminoditiol (DADT);
- ◆ N,N'-bis-(1-carboetoxi-2-mercapto)-etiletilendiamina (ECD)

c) Grupo das Iodoanfetaminas:

- ◆ N-isopropil-p-iodoanfetamina (IMP);
- ◆ N,N,N'-trimetil-N-(2-hidroxi-3-metil-5-iodobenzil)-1,3-propanodiamino (HIPDM);

Dentre o grupo das ciclodiaminas, o PnAO (Propilenoaminoxima), quando complexado com ^{99m}Tc (PnAO- ^{99m}Tc) forma um complexo neutro e lipofílico, demonstrando uma captação cerebral alta, porém, com a desvantagem de apresentar um clareamento rápido. Quando comparado ao ^{133}Xe , apresenta um contraste menor entre as massas cinzenta e branca do cérebro ^(10,43).

Um grande número de análogos do PnAO foram investigados e dentre toda a série, o que mostrou características promissoras foi o HMPAO (Hexametilpropilenoaminoxima). Na síntese desse sal obtiveram-se dois isômeros: *meso* e *d,l*-HMPAO, e quando complexados com ^{99m}Tc formam o HMPAO- ^{99m}Tc que, por sua vez é neutro e lipofílico. Entretanto, estudos clínicos realizados com a mistura isomérica e os isômeros separados, demonstraram que o *d,l*-HMPAO- ^{99m}Tc possuía uma maior captação cerebral e maior tempo de retenção, fornecendo imagens cerebrais de alta qualidade ^(10,81,88,104,108). Esse composto pode ser encontrado comercialmente na forma liofilizada.

O *d,l*-HMPAO- ^{99m}Tc apresentou uma seletividade cerebral efetiva com uma captação alta da massa cinzenta, visibilizando-se detalhes estruturais na cavidade ventricular em imagens obtidas com SPECT transversal. Foi possível obter estudos seriados em um mesmo paciente a cada 24 horas, por ter o ^{99m}Tc uma meia vida de 6,02 horas ⁽¹⁰⁴⁾.

Entretanto, quando o *d,l*-HMPAO-^{99m}Tc encontra-se na corrente sanguínea, ocorre uma troca rápida para um complexo menos lipofílico, o que permite avaliar a porcentagem do fármaco retido no cérebro por suas características químicas e, a velocidade de conversão do complexo lipofílico para hidrofílico. A conversão intracerebral do complexo pode ser influenciada por muitos fatores, como por exemplo, o conteúdo de glutathiona^(10,14,84).

Além disto, a inconveniência do uso deste radiofármaco é que o *d,l*-HMPAO-^{99m}Tc deve ser injetado intravenosamente, dentro dos primeiros 30 minutos após reconstituição do composto liofilizado, devido a rápida conversão do complexo primário para secundário, observado em estudos radioquímicos realizados. Há também um aumento da quantidade de impurezas quando utiliza-se solução de pertecnetato de sódio eluída de gerador ⁹⁹Mo-^{99m}Tc a mais de 2 horas, ou ainda, quando utiliza-se gerador ⁹⁹Mo-^{99m}Tc não previamente eluído no prazo de 24 horas, dependendo inclusive este último fato, da procedência do gerador^(10,99).

Apesar deste radiofármaco ser um traçador excelente apresentando captação cerebral alta, continuaram-se as investigações de modo a obter-se um composto lipofílico com melhor estabilidade radioquímica, a ser utilizado rotineiramente.

Do grupo dos ciclodiaminoditiois, sintetizaram-se ligantes do tipo BAT (Bis-Aminoetanotiol) e, com a introdução de grupamentos ésteres na molécula, obteve-se o ECD (N,N'-bis-(1-carboetoxi-2-mercapto)-etiletildiamina)⁽¹⁰⁾.

Na síntese do ECD obtém-se dois isômeros que encontram-se diferenciados pela propriedade estereoquímica do composto: *D,D* e *L,L*-ECD. Tal qual o HMPAO, o ECD quando complexado com ^{99m}Tc forma um complexo neutro e lipofílico (ECD-^{99m}Tc). Observou-se, em estudos realizados em macacos, que os dois isômeros atravessam a barreira cerebral, porém, com prioridade, o *L,L*-ECD-^{99m}Tc que mantém-se mais tempo

intracelularmente^(10,81,128). Esse composto também pode ser encontrado comercialmente na forma liofilizada.

Testes clínicos com o L,L -ECD-^{99m}Tc mostraram uma captação cerebral de até 6,8 %Dose. A razão da captação entre as massas cinzenta cerebral e branca foi de 2,2 %Dose quando comparada com 1,6 %Dose para o d,l -HMPAO-^{99m}Tc⁽²⁹⁾.

Testes farmacológicos realizados com o L,L -ECD-^{99m}Tc, sugerem que a captação cerebral alta desse radiofármaco é devida a sua rápida metabolização na região intracerebral com a ocorrência de deesterificação causada por enzima (hidrólise enzimática). Na primeira hora, 90% da radioatividade captada permanece retida no cérebro, relacionando-se a sua metabolização, portanto, à espécies mais polares^(10,86).

No grupo das iodoanfetaminas, do estudo da série de compostos amínicos investigados, realizaram-se ensaios com o grupo das iodoanfetaminas. A estrutura química padrão (grupo farmacofórico) estudada corresponde a uma amina simpatomimética (figura 1)^(18,58).

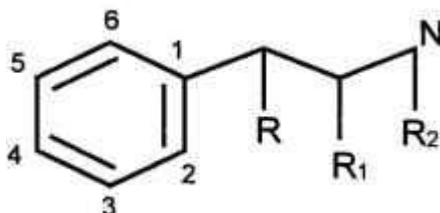


Figura 1 – Grupo farmacofórico do derivado amínico simpatomimético

Substituindo-se no grupo farmacofórico, R, R₁ e R₂ pelo elemento hidrogênio, obteve-se a feniletilamina. A partir deste composto começaram os estudos substituindo-se os hidrogênios por outros elementos ou grupamentos químicos. Dentre as substituições realizadas obteve-se a N-isopropil-p-iodoanfetamina (figura 2):

- a) Substituição do Hidrogênio do anel aromático na posição quatro (posição *para*) pelo halogênio Iodo (I);
- b) Substituição de R₂ pelo radical isopropil (-C₃H₇);
- c) Substituição de R₁ pela metila (-CH₃);
- d) R = H₂.

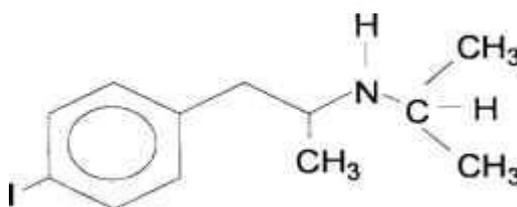


Figura 2 – Estrutura química do N-isopropil-p-iodoanfetamina (IMP)

O IMP (figura 2) apresenta fórmula molecular igual a C₁₂H₁₈IN e peso molecular (PM) de 303,1854 g.

Baldwin e col. ⁽¹²⁾, observaram que a posição do iodo (*orto*, *meta*, *para* e *3,4-diiodo*) no anel aromático afeta a captação cerebral, quando o radiofármaco foi injetado em animais de laboratório. As atividades obtidas, captadas pelo cérebro, encontram-se expressas em %Dose/g de tecido nos tempos de 5 e 60 minutos após injeção do radiofármaco, respectivamente: posição *orto* (1,0 e 0,6%), *meta* (1,1 e 0,9%), *para* (1,5 e 1,9%) e *3,4-diiodo* (1,1 e 1,2%). Portanto, o isômero que mostrou maior afinidade pelo tecido cerebral nos tempos citados com incremento no instante tardio, foi o com iodo localizado na posição *para*.

Winchell e col. ⁽¹³²⁾ pesquisaram e observaram que o IMP quando marcado com ^{123}I (IMP- ^{123}I) apresentava uma captação cerebral elevada e um clareamento lento do cérebro.

Estudos de distribuição biológica do IMP- ^{123}I realizados em camundongos da raça *ddy*, apresentaram uma retenção de 8,3%Dose/g após injeção intravenosa, aos 10 minutos mantendo-se praticamente constante até 120 minutos. Encontrou-se atividade alta nos pulmões (50%Dose/g), imediatamente após a injeção, mantendo-se constante entre os tempos de 30 e 120 minutos (20%Dose/g). A %Dose/g encontrada no fígado (10,8%), manteve-se também praticamente constante. A captação encontrada nos rins (\cong 15%Dose/g para os tempos entre 30 e 60 minutos), indica ser, a via urinária, uma provável via de eliminação do radiofármaco e seus metabólitos ⁽⁴⁸⁾.

Oguchi e col. ⁽²⁶⁾ realizaram estudos clínicos em SPECT, injetando o IMP- ^{123}I intravenosamente, para determinação do fluxo sanguíneo cerebral. Observaram que a maior porção da atividade injetada do radiofármaco encontrava-se, inicialmente, acumulada no pulmão (estudo de captação pulmonar) e, gradualmente e concomitante ao clareamento pulmonar, ocorria o transporte da atividade do pool pulmonar para a circulação sistêmica, seguido de um aumento da atividade no fluxo sanguíneo cerebral regional. Os cálculos dos valores estimados foram associados ao equivalente às integrais da atividade sanguínea arterial e fluxo sanguíneo cerebral regional.

Baldwin e Wu ⁽¹³⁾, realizando experimentos em animais de laboratório, identificaram que a biotransformação do radiofármaco pode ser por dealquilação, deaminação e degradação oxidativa para ácido iodobenzóico, sucedido por conjugação com glicina, resultando em ácido p-iodohipúrico como o seu maior metabólito. Foi observado, também, uma deiodação mínima, *in vivo*, ocorrendo um aumento da radioatividade na tireóide de aproximadamente 0,2% da dose injetada em 24 horas ^(13,45,97).

Observaram ainda nos animais de laboratório, uma redistribuição do radiofármaco no cérebro, devido provavelmente, à liberação e reabsorção do próprio IMP- ^{123}I ou de um metabólito (p-iodoanfetamina) que mostrou também ser absorvido pelo cérebro de rato, após 2 horas de sua injeção por via intravenosa. Entretanto, concluíram

que, se esta redistribuição do traçador tem algum valor de prognóstico ou algum outro significado clínico, é ainda duvidoso ⁽¹³⁾.

Experimentos realizados em macacos, injetando-se intravenosamente o IMP-¹²³I, apresentaram uma captação cerebral de 7,8%Dose/órgão aos 60 minutos, mantendo-se em 6,3 %Dose/órgão após 4 horas. A razão da concentração do radiofármaco entre as massas cinzenta e branca do cérebro após a dose, foi de 2,4%Dose/órgão aos 15 minutos; 2,2% aos 60 minutos; 1,8% após 4 horas; 0,6% no primeiro dia e 0,5% no segundo dia. A atividade encontrada no pulmão foi de 11,2%Dose/órgão aos 15 minutos; 4,5% após 4 horas e 0,6% no primeiro dia. No fígado, a primeira hora foi de 18%Dose/órgão, diminuindo para 1,5% depois de 24 horas ⁽⁴⁵⁾.

Yonekura e col ⁽¹³⁴⁾, realizaram estudos clínicos com IMP-¹²³I e observaram haver uma captação alta pelo pulmão logo após sua injeção intravenosa, ocorrendo na seqüência, um rápido clareamento pulmonar com aumento da captação cerebral, sendo sugerido pelos autores que a captação cerebral do IMP-¹²³I é influenciada pelo clareamento pulmonar.

Em estudos clínicos efetuados por Dewey e col. ⁽³⁰⁾, foi verificada a captação do IMP-¹²³I pelo melanoma maligno ocular, após 12 horas de sua injeção intravenosa.

Outros estudos clínicos foram realizados para obtenção de imagens cerebrais e revelaram a importância do IMP-¹²³I:

- a) Associando-se o IMP-¹²³I com outras técnicas utilizadas na avaliação de imagens cerebrais como: Tomografia Computadorizada (TC) ^(9,78,80,85,97,99); Ressonância Magnética (RM) ^(80,113) e Eletroencefalografia ⁽⁸⁰⁾;
- b) Injetando-se o IMP-¹²³I em paralelo com outros radiofármacos de ¹³³Xe (gás), ^{99m}Tc e ¹²³I utilizados na obtenção de medidas do fluxo sanguíneo cerebral regional para avaliação de imagens cerebrais: ECD-^{99m}Tc ^(31,73,94); HMPAO-^{99m}Tc ^(31,94,125); IBZM-¹²³I ^(59,79) e ¹³³Xe ^(50,72,114,125).

- c) Injetando-se IMP-¹²³I, para visibilização de imagens obtidas no diagnóstico de demência de múltiplo infarto e demência senil (doença de Alzheimer) ^(8,24,63,64,97,105,135,136),
- d) Injetando-se IMP-¹²³I para visibilização de imagens obtidas nos estados patológicos do cérebro que inclui estudos de desordens funcionais, tais como: esquizofrenia e psicose maniaco depressiva ^(54,92,97,111,132), epilepsia ^(49,51,124), infarto agudo e crônico ^(40,85,117,126,129), doença de Parkinson ⁽⁵⁶⁾, transtornos cerebrais ocorridos em pacientes diabéticos ⁽⁸³⁾, demências vasculares e degenerativas ^(55,91) e anorexia nervosa ⁽¹¹⁶⁾,
- e) Injetando-se IMP-¹²³I para detecção de anomalias em diferentes áreas do cérebro e cerebelo e, visualização de imagens obtidas nos estudos de vários tipos de desordens do sistema nervoso central com obtenção de imagens recentes e tardias ^(35,39,56,57,63,87),
- f) Injetando-se IMP-¹²³I para visualização de imagens obtidas de tumores cerebrais não comuns como glioma, assim como, tumores malignos primários do tipo linfoma ^(35,42,112).

Como resultados desses estudos, ficou evidenciado que o IMP-¹²³I permite:

- a) Identificar diferentes captações nas diferentes áreas cerebrais: pacientes saudáveis, realizando diferentes estímulos visuais e auditivos; pacientes saudáveis, com diferença de faixa etária; pacientes com desordens cerebrais e pacientes com lesões cerebrais;
- b) Obter imagens de 4-6 minutos logo após injeção do composto (imagens recentes) e de até 4 horas (imagens tardias);
- c) Obter imagens cerebrais seriadas indicando a lesão e o curso da evolução da doença, em paciente com desordem cerebral;
- d) Evidenciar tumores cerebrais, antes e pós-tratamento quimioterápico;

Um outro composto investigado pertencente à família da iodoanfetamina foi o HIPDM (N,N,N'-trimetil-N-(2-hidroxi-3-metil-5-iodobenzil)-1,3-propanodiamino). Este, quando marcado com iodo-123 (HIPDM-¹²³I), apresentou-se também como agente de perfusão cerebral ⁽⁶⁵⁾.

Estudos com HIPDM-¹²³I injetado em macacos, mostraram uma rápida captação cerebral de até 5% da dose administrada. Assim como o IMP-¹²³I, a captação desse traçador mostrou-se inalterada no cérebro entre 30 e 60 minutos após injeção intravenosa. Sabendo-se que o HIPDM-¹²³I, também apresenta retenção cerebral devida à diferença de pH obtida entre o sangue (7,4) e o cérebro (7,0), a razão da concentração cérebro:sangue poderá ser alterada por qualquer mecanismo que venha alterar estes valores de pH ^(88,97).

1.4 - ESTUDO DA TÉCNICA DE MARCAÇÃO DO IMP COM IODO RADIOATIVO

O Iodo-123 apresenta as seguintes propriedades físicas: $t_{1/2} = 13,2$ horas, emissor gama de 159 keV (99%) e ausência de partículas β^- . É um elemento de ciclotron e pode ser produzido por um grande número de reações nucleares, sendo o IMP-¹²³I obtido por ^(20,52,68,97,98,101,103,110).

a) Processo direto: utiliza-se ou prótons ou deutêrons para irradiação do alvo de telúrio (¹²⁴TeO₂ ou ¹²⁴Te-metálico). As principais reações são: ¹²⁴Te(p,n)¹²³I; ¹²⁴Te(p,2n)¹²³I e ¹²⁴Te(d,n)¹²³I.

O processo normalmente escolhido para uma produção, consiste na reação: ¹²⁴Te(p,2n)¹²³I. O alvo utilizado pode ser ¹²⁴Te-metálico ou ¹²⁴TeO₂ enriquecidos e, as partículas utilizadas na irradiação são de baixa energia ($E_p = 24$ MeV). Entretanto, esta reação apresenta como inconveniente o aparecimento de outros isótopos: ¹²⁴I, ¹²⁵I e ¹²⁶I

(contaminantes), durante a sua produção. O ^{124}I é a impureza mais freqüente e significativa, pois, possui energia gama de 603 keV (83%) e $t_{1/2} = 4,2$ dias.

b) Processo indireto: utiliza como sistema precursor ^{123}Xe decaindo a ^{123}I . O ^{123}Xe é um radioisótopo de $t_{1/2} = 2,08$ horas, e decai por captura eletrônica (CE) e β^+ . As principais reações são:

- ◆ $^{127}\text{I}(p,5n)^{123}\text{Xe} \xrightarrow{\beta^+; \text{CE}; 2,08 \text{ h}} ^{123}\text{I};$
- ◆ $^{127}\text{I}(p,6n)^{123}\text{Xe} \xrightarrow{\beta^+; \text{CE}; 2,08 \text{ h}} ^{123}\text{I};$
- ◆ $^{124}\text{Xe}(p,2n)^{123}\text{Cs} \xrightarrow{\beta^+; 6 \text{ min}} ^{123}\text{Xe} \xrightarrow{\beta^+; \text{CE}; 2,08 \text{ h}} ^{123}\text{I};$
- ◆ $^{124}\text{Xe}(p,pn)^{123}\text{Xe} \xrightarrow{\beta^+; \text{CE}; 2,08 \text{ h}} ^{123}\text{I}.$

Os processos mais utilizados em produção rotineira são os dois últimos citados. A energia dos prótons das irradiações é de 30 MeV e, o alvo é o gás de ^{124}Xe enriquecido. Nestas reações não há formação de contaminantes no meio.

O ^{131}I é um elemento produzido em reator, com $t_{1/2} = 8,04$ dias, decai por emissão de partículas β^- e, emissão gama de 364 keV (79%). É obtido pelo bombardeamento de neutrons pelas reações ^(68,97,98,101,103).

- ◆ $^{130}\text{Te}(n,\gamma)^{131}\text{Te} \xrightarrow{\beta^-; 25 \text{ min}} ^{131}\text{I};$
- ◆ $^{235}\text{U}(n,f).$

Tanto o ^{123}I , como o ^{131}I , são obtidos em solução de hidróxido de sódio na forma de Na^{123}I e Na^{131}I , respectivamente. Quando utilizados em marcações de moléculas, devem apresentar-se livres de redutor e carregador.

Os métodos de marcação de moléculas com iodo radioativo existentes, classificam-se em ^(68,103):

- a) Métodos de radioidação por substituição aromática eletrofílica;
- b) Método de radioidação por substituição nucleofílica, incluindo-se a substituição por troca isotópica;
- c) Métodos de radioidação aplicado as duplas ligações;
- d) Métodos de radioidação por demetalação;
- e) Métodos de radioidação por marcações por conjugação.

Cada método de marcação acima citado, é específico a um tipo de molécula.

Dentre os métodos de marcação com iodo radioativo citados ^(68,103), avaliou-se as técnicas descritas por Figols e col. ⁽³³⁾ e Godoy e col. ⁽³⁶⁾, para obtenção do IMP-¹³¹I.

A técnica de Figols e col. ⁽³³⁾ consistiu no método de substituição nucleofílica isotópica, onde adicionou-se a um frasco Na¹³¹I, Na₂SO₃ e solução ácida de IMP e, levou-se o frasco à uma temperatura de 170 °C por 20 minutos. O IMP-¹³¹I formado foi purificado por uma coluna de fase reversa (RP C₁₈) com solventes (etanol e dietiléter), os quais foram removidos por aquecimento à 70 °C até secura, sendo o radiofármaco ressuspendido em solução fisiológica.

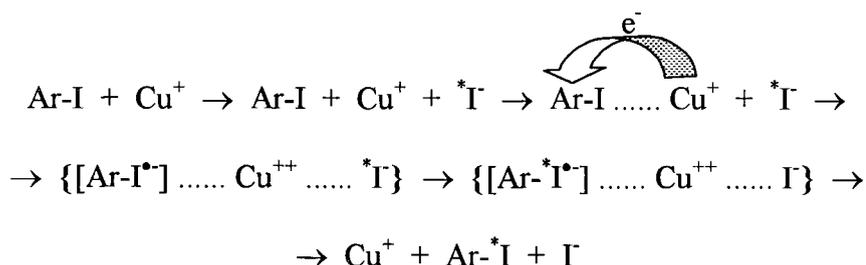
Godoy e col. ⁽³⁶⁾ descreveram dois tipos de técnicas de marcação, sendo que ambas ocorrem por troca isotópica entre o radioiodo e o iodo da molécula do IMP (método de substituição nucleofílica isotópica).

A primeira marcação de Godoy e col. ⁽³⁶⁾, consistiu em dissolver o IMP em água destilada purificada, adicionando-se uma solução ácida de CuSO₄.5H₂O e Na¹³¹I, em

seguida levou-se a um aquecimento no intervalo de 170 - 175°C por 20 minutos. A segunda era semelhante à primeira, entretanto, ao frasco de reação deve-se acrescentar o sal de ácido ascórbico, antes da adição do Na¹³¹I.

Godoy e col. ⁽³⁶⁾, descreveram que na marcação, a troca nucleofílica isotópica ocorre em presença de Cu⁺, podendo formar um complexo intermediário do tipo Ar-Cu-I, favorecendo a substituição isotópica. O Cu⁺ (cobre I) é utilizado como agente redutor do iodo da molécula do IMP e o ácido ascórbico como agente catalisador da conversão de Cu⁺⁺ (cobre II) para Cu⁺ (cobre I).

A representação esquemática da reação de substituição nucleofílica isotópica, na presença de cobre e ácido ascórbico corresponde ⁽¹⁰⁹⁾:



1.5 – ENSAIO DE SEGURANÇA TOXICOLÓGICA EM RADIOFÁRMACOS

Como os demais fármacos, os compostos radiomarcados encontram-se inclusos no quadro dos produtos farmacêuticos, com a designação de radiofármacos, cuja finalidade é o emprego em diagnóstico e/ou terapia. Como tal, é essencial assegurar sua uniformidade, confiabilidade e segurança nas avaliações de sua formulação, afim de evitar incidência de efeitos tóxicos, quando administrado em ser humano ^(122,123).

As massas das matérias primas que compõem o radiofármaco, encontram-se em quantidades traçadoras, de tal forma que, aparentemente, não haveria comprometimento quanto sua aplicabilidade, porém sabe-se que, para essa classe de produtos, requer cuidados especiais em seu preparo. Para a realização do ensaio de segurança toxicológica, não há uma regra específica para o estudo da sintomatologia provocada em animais de pequeno porte, entretanto, há a necessidade da verificação do efeito danoso na conjugação composto:radiação^(122,123).

*“Os excessos do sistema de competição assassinam o espírito,
impossibilitam qualquer vida cultural e
chegam a suprir os progressos nas ciências do futuro ...
Não basta ensinar ao homem uma especialidade,
porque se tornará assim uma máquina utilizável, mas não uma personalidade.
É necessário que adquira um sentimento,
um senso prático daquilo que vale a pena ser empreendido,
daquilo que é belo, do que é moralmente correto ...,”*

Albert Einstein

2 - OBJETIVO

Tendo em vista o grande interesse na utilização do IMP-¹²³I em exame clínico rotineiro na avaliação do fluxo sanguíneo cerebral regional, nosso objetivo consistiu em:

- 1° - Otimização dos parâmetros de marcação do IMP (N-isopropil-p-iodoanfetamina) com o radioiodo;
- 2° - Estudos biológicos do radiofármaco em animais de pequeno e médio porte;
- 3° - Adequação ao programa BIEXP. BAS e análise do perfil da curva traçada das amostras sanguíneas obtidas na distribuição biológica do composto.

*“Quanto mais simples é a nossa representação do mundo e
qu岸tos mais fatos ela engloba,
mais fortemente ela reflete a harmonia do Universo”*

Albert Einstein

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - MATERIAIS

3.1.1 – REAGENTES E SOLUÇÕES

- Acetato de amônio, grau de pureza p.a., Merck;
- Acetonitrila, grau de pureza de 99,9%, Mallinckrodt;
- Ácido acético glacial, grau de pureza p.a., Merck;
- Ácido acético glacial, grau de pureza de 99,9%, Mallinckrodt;
- Ácido L-ascórbico, grau de pureza p.a., Synk;
- Água destilada purificada, Millipore;
- Cloridrato de N-isopropil-p-iodoanfetamina (IMP), Emka Chemie;
- Clorofórmio, grau de pureza p.a., Merck;
- Etanol, grau de pureza de 99,9%, Mallinckrodt;
- Éter etílico, grau de pureza p.a., Merck;
- Éter de petróleo, grau de pureza p.a., Merck;
- Heparina, solução 5000UI/mL - Liquemine, Roche;
- Hidróxido de amônio, grau de pureza p.a., Merck;
- Hidróxido de sódio, grau de pureza p.a., Merck;
- Iodeto de sódio, grau de pureza p.a., Merck;
- Iodo metálico, grau de pureza p.a., Merck;
- Metanol, grau de pureza de 99,9%, Mallinckrodt;

- Silica gel azul, grau de pureza p.a., CRQ;
- Solução de ácido tricloroacético 10% (TCA 10%), grau de pureza p.a., Synk;
- Solução de Na¹²³I, IPEN-CNEN/SP;
- Solução de cloreto de sódio 0,9%, Sanibol;
- Solução de Na¹³¹I, MS Nordion, Canadá;
- Sulfato de cobre pentahidratado (cúprico), grau de pureza p.a., Reagen;
- Tetrahidrofurano (THF), grau de pureza de 99,9%, Mallinckrodt;

3.1.2 – EQUIPAMENTOS

- Acelerador de partículas, Ciclotron CV-28, IPEN-CNEN/SP;
- Aparelho para agitação, Vortex;
- Aparelhos para determinação do ponto de fusão:
 - ◆ tipo capilar, modelo FP5, Mettler, Suíça;
 - ◆ tipo laminar, modelo PF 1000 com potenciômetro e termômetro, Copller;
- Aparelho para análise elementar, modelo 2400 CHN, Perkin Elmer, Alemanha;
- Aparelho para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) composto pelos seguintes módulos:
 - ◆ Modelo composto por injetor manual e bomba de solventes (Multisolvant delivery system), modelo 600 E, Waters, EUA;
 - ◆ Detector UV/visível (210 - 600 nm), modelo 486, Waters, EUA;
 - ◆ Radiocromatógrafo com células para radiação gama e beta, modelo RadiomaticTM-150TR, Flow scintillatin analyzer Packard, Camberra, EUA;

- ◆ Degaseficador, Waters, EUA;
- ◆ Integrador, modelo 746, Waters, EUA;
- Balança analítica, modelo B6, Mettler, Alemanha;
- Balança semi-analítica, modelo PB 303, Mettler/Toledo, Alemanha;
- Balança semi-analítica, modelo HM 100, Helmac, EUA;
- Calibrador de doses modelo CRMTM-35R, Carpintec, Inc, EUA;
- Câmara de cintilação, modelo Gammatomo MB9300, matriz 128, zoom 70, Gama do Centro de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas (C.M.N. - H.C.);
- Centrífuga, modelo CF7D₂, Himac, Brasil;
- Chapa de aquecimento, Digi Mec, Brasil;
- Contador automático tipo poço, com cristal NaI(Tl), modelo D5002, cobra II, auto-gamma, A. Packard, Camberra, EUA;
- Contador automático tipo poço com cristal NaI(Tl), Ansr-Abbot, EUA;
- Despertador, Herweg, Brasil;
- Espectrômetro na região do infravermelho, modelo FTIR 1750, Perkin Elmer, Alemanha;
- Espectrômetro de ressonância nuclear magnética, modelo 300 MHz, Brooker, EUA;
- Glove box, França;
- Lacrador e deslacrador manual, Wheaton, EUA;
- Micropipetas: 0,0 - 20,0 µL; 0,0 - 100,0 µL; 0,0 - 200,0 µL e 200,0 - 1000,0 µL, Gilson, EUA;
- Purificador de água, Water Purification System, modelo Milli-RX 45, Millipore, EUA;
- Radiocromatógrafo, modelo tracemaster 20, Automatic TLC-Linear Analyzer, Berthold, Alemanha;
- Ultrassom, Thornton, Inpel Eletrônica S/A, EUA.

3.1.3 – OUTROS

- Coluna Partisil 10 ODS-1 (RP-C₁₈) para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, 250 x 4,6 mm, 10 µm, WCS Analytical column, Whatman;
- Frasco de fundo cônico sem tampa, 5 mL, Wheaton;
- Gaiolas para conservação de animais;
- Guilhotina;
- Lacre de alumínio rasgável, Farmacap;
- Luva cirúrgica descartável, Mucambo;
- Luva anti-derrapante forrada, Mucambo;
- Luz ultravioleta, 8 Watts, GE;
- Filtro descartável de 0,22 µm e 0,45 µm Millipore;
- Microseringa de vidro para CLAE, com capacidade de 25 µL e 50 µL, Waters;
- Nitrogênio líquido, White Martins;
- Papel de alumínio com silicagel 60, DC - Alufolien, Kieselgel 60, Merck;
- Papel Whatman 3MM para cromatografia;
- Pinça comum e cirúrgica;
- Ponteira descartável para micropipeta, Gilson;
- Seringa descartável com agulha tipo insulina de 1,0 mL;
- Tampa butílica comum de borracha, Farmacap;
- Tesoura comum e cirúrgica;
- Vidraria em geral;
- Programa de computador ACD-LABS;
- Programa de computador BIEXP, Instituto Nacional de Astrofísica, México;
- Programa de computador MSEXcel-7.0 – Microsoft.

3.1.4 – ANIMAIS

- Camundongo *Swiss*, adulto, fêmea, pesando entre 15 - 25 g, biotério IPEN-CNEN/SP;
- Coelho *New Zeland*, pesando aproximadamente 3,5 Kg, Centro de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas (C.M.N. – H.C.).

3.2 – MÉTODOS

3.2.1 – ANÁLISES QUÍMICAS DO CLORIDRATO DE N-ISOPROPIL-p-iodoANFETAMINA (IMP)

3.2.1.1 - ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A) Ponto de Fusão (PF)

Realizou-se a determinação do PF do IMP em dois aparelhos. O primeiro, em tubo tipo capilar, aparelho pertencente ao Laboratório da Divisão de Produção (CRP) do Centro de Radiofarmácia (CR) do IPEN-CNEN/SP e o segundo, tipo laminar, aparelho pertencente ao Laboratório da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP).

B) Espectrofotometria na Região do Infravermelho (IV)

Obteve-se o espectro na região do IV da amostra de IMP no Laboratório do Instituto de Química Orgânica da Universidade de São Paulo (QO-USP). A amostra IMP foi preparada em pastilha de KBr e analisada na região de IV no intervalo de frequência de $500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$.

C) Espectroscopia de Ressonância Nuclear Magnética (RNM)

O espectro de ^{13}C RNM da amostra de IMP foi obtido em um aparelho de 300 MHz no Laboratório de Análise Instrumental do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP). Utilizou-se como solvente, clorofórmio deuterado.

Em paralelo obtiveram-se espectros de ^{13}C RNM, que foram simulados pelo programa ACD-LABS; para tanto, forneceu-se ao programa as estruturas químicas dos isômeros N-isopropil-p-iodoanfetamina e N-isopropil-m-iodoanfetamina.

D) Análise Elementar

Avaliaram-se as porcentagens de Carbono (C), Nitrogênio (N) e Oxigênio (O) do IMP no Laboratório de Análise Elementar do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP).

3.2.1.2 - ANÁLISES EM CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

Foram realizadas análises no Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência do Laboratório da Divisão de Garantia da Qualidade (CRQ) do Centro de Radiofarmácia (CR) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP). As amostras utilizadas foram: IMP dissolvido em água destilada purificada e água destilada purificada.

Realizaram-se as análises utilizando-se dois tipos de sistemas de CLAE, para obtenção dos cromatogramas das amostras, IMP e água destilada purificada, conforme descrito por Angelberger e col. ⁽⁷⁾.

O primeiro sistema utilizado consistiu em:

- Mistura de solvente → Etanol:Água destilada purificada:Hidróxido de amônio (60:40:1);
- Coluna: RP C₁₈-Whatman, 250 x 4,6 mm, 10 µm;
- Comprimento de onda: 254 nm;
- Fluxo: 1,4 mL/min.;

E para o segundo sistema de CLAE utilizou-se:

- Mistura de solvente → Etanol:Água destilada purificada:Acetato de amônio:Ácido acético glacial (55:43:1:1);
- Coluna: RP C₁₈-Whatman, 250 x 4,6 mm, 10 µm;
- Comprimento de onda: 254 nm;
- Fluxo: 1 mL/min.;

3.2.2 - MÉTODO DE MARCAÇÃO DO IMP COM IODO RADIOATIVO

A técnica de marcação do IMP com iodo radioativo escolhido foi o descrito por Godoy e col. ⁽³²⁾, que consiste no seguinte:

1) Em um frasco de marcação de fundo cônico adicionar:

- ◆ 1 - 5 mg de IMP.HCl + 50 µL de água destilada;
- ◆ 50 µL de solução de CuSO₄.5H₂O em ácido acético 96% [3,15 µmol Cu⁺⁺/mL];
- ◆ 2 mg de ácido ascórbico;
- ◆ 10 - 50 µL de solução de Na¹³¹I (37 – 370 MBq).

2) Fechar o frasco.

3) Reagir à 170 - 175 °C por 20 minutos.

3.2.3 - MÉTODOS UTILIZADOS NA AVALIAÇÃO DA PUREZA RADIOQUÍMICA DO IMP-¹³¹I

Para avaliar a pureza radioquímica do IMP-¹³¹I, foram utilizados os métodos cromatográficos de adsorção e partição.

3.2.3.1 - Cromatografia de Adsorção (Sílica Gel) e Partição (Papel Whatman) em Sistema Ascendente ^(33,36)

Para determinação do perfil cromatográfico do IMP e iodeto (I⁻), utilizou-se dois tipos de fase estacionária, o primeiro foi em folha de alumínio impregnada com sílicagel 60 contendo revelador de UV (TLC - sistema cromatográfico de adsorção), com dimensão de 20 x 2 cm e, o segundo em papel Whatman 3 MM, com dimensão de 13 x 1 cm. Como fase móvel utilizou-se a mistura Clorofórmio:Metanol:Ácido acético glacial (85:15:1) para ambos os sistemas, conforme Godoy e col. ⁽³⁶⁾ e Figols e col ⁽³³⁾.

As amostras de IMP e NaI foram preparadas com água destilada purificada e aplicadas a 1,5 cm de distância da margem inferior dos papéis, percorrendo o solvente uma distância de 17 cm no ITLC e, 10 cm no papel Whatman 3 MM. Todas as análises foram feitas em triplicatas. Após o término dos processos cromatográficos, as tiras de ITLC e papel foram secadas e, reveladas sob luz ultravioleta e em vapor de iodo, respectivamente, apresentando os seguintes Rf para as duas fases estacionárias:

$$Rf_{IMP} = 0,9 - 1,0$$

$$Rf_{Iodeto (I^-)} = 0,0 - 0,1$$

O procedimento realizado para as amostras radioativas Na¹³¹I e IMP-¹³¹I foram idênticos ao descrito acima.

Ao término da corrida cromatográfica, as tiras foram secadas à temperatura ambiente, cortadas a cada centímetro e, cada segmento foi colocado em tubos apropriados para avaliação da radioatividade, apresentando o mesmo Rf.

3.2.3.2 - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A CLAE das amostras de IMP-¹³¹I (0,150 - 0,270 MBq/10 µL) e Na¹³¹I (0,074 - 0,111 MBq/10 µL) baseou-se na descrição de Angelberger e col. ⁽⁷⁾. As condições utilizadas na obtenção do perfil das amostras foram:

- Sistema de solvente → Etanol:Água destilada purificada:Acetato de amônio:Ácido acético glacial (55:43:1:1);
- Coluna: RP C₁₈-Whatman, 250 x 4,6 mm, 10 µm;
- Comprimento de onda: 254 nm;
- Fluxo: 1 mL/min.;

3.2.4 - ESTUDO DE OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE MARCAÇÃO DO IMP COM IODO-131

3.2.4.1 – Parâmetros Avaliados

Foram avaliados os seguintes parâmetros, tendo-se como pré-estabelecidos os de Godoy e col. ⁽³⁶⁾.

Tabela 1 – Otimização dos parâmetros de marcação para obtenção do IMP-¹³¹I e os parâmetros estabelecidos por Godoy e col. ⁽³⁶⁾

PARÂMETROS DE REAÇÃO AVALIADOS	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS						GODOY e col ⁽³⁶⁾
TEMPERATURA (°C)	149 - 151	159 - 161	169 - 171	174 - 176	179 - 181	189 - 191	170 - 175
TEMPO (min.)	10	15	20	25	30	40	20
MASSA DE ÁCIDO ASCÓRBICO (mg)	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	2,0
pH	≅ 2,0	4,0	6,0	-	-	-	≅ 2,0
RELAÇÃO MASSA DE IMP (mg)/ATIVIDADE DE Na¹³¹I (MBq)	1/80 (3/8880)	1/40 (3/4440)	1/10 (3/1110)	1/2 (3/222)	1/1 (3/111)	- -	1/1 - 1/2 (1/37-1/74)

Para o estudo de otimização das marcações, realizou-se para cada parâmetro um número de 3 a 6 marcações (n), com exceção do parâmetro temperatura e tempo de reação, que foram de 6 a 9 marcações (n).

Escolheu-se a técnica de Godoy e col. ⁽³⁶⁾, nesta verificou-se que o ácido ascórbico era introduzido na reação sob a forma de cristal. Com a finalidade de se obter

uma maior facilidade na manipulação dos componentes envolvidos na marcação, procurou-se introduzir o ácido ascórbico na forma de solução.

Dessa maneira, preparou-se a seguinte solução: 100 mg de ácido ascórbico foram dissolvidos em 500 μL de água destilada purificada, de tal modo que, um volume de 10 μL correspondesse a quantidade de 2 mg do ácido ascórbico (massa utilizada por Godoy e col. ⁽³⁶⁾). Foram realizadas duas marcações em paralelo, uma com ácido ascórbico sob forma de cristal (2 mg) e outra sob forma de solução (10 μL /2mg). Como em ambas, os resultados foram similares, ficou estabelecido que todos os procedimentos de marcação do IMP com iodo-131, seriam executados com ácido ascórbico na forma de solução aquosa.

A solução aquosa de ácido ascórbico deve ser preparada no momento da marcação, visto ser esse um produto altamente fotossensível, havendo a possibilidade de formação de produtos de oxidação, como o ácido dehidroascórbico ^(74,96).

3.2.4.2 - Estabilidade do IMP-¹³¹I em Função da Relação Massa de IMP (mg) pela Atividade de Na¹³¹I (MBq) (Relação Massa/Atividade)

No estudo da estabilidade analisou-se quatro relações massa/atividade, sendo cada uma investigada por um período de 4 dias. As relações avaliadas foram: 1/1 (3mg de IMP/111 MBq); 1/5 (3mg de IMP/555 MBq); 1/10 (3mg de IMP/1110 MBq) e 3/1 (3mg de IMP/37 MBq). As amostras foram conservadas em ambiente refrigerado (2 - 8°C), durante este estudo.

3.2.5 - ESTUDOS BIOLÓGICOS DO IMP MARCADO COM RADIOIODO

3.2.5.1 - Distribuição Biológica do IMP-¹³¹I em Animal de Pequeno Porte

Realizou-se a distribuição biológica em camundongos fêmeas adultas da raça *Swiss*, normais, pesando entre 15 a 25 g. O radiofármaco foi injetado (1,11 - 1,48 MBq/100 µL) pela veia caudal e nos tempos de 1, 5, 15, 30 minutos e, 1, 2, 4, 6, 16, 24 e 48 horas após a administração, foram sacrificados por decaptação. Para cada tempo foi utilizado um número de 6 a 9 camundongos (n). Os animais não passaram por nenhum tipo de preparo, tais como proteção da tireóide (solução de iodo não radioativo) e, aplicação de anestesia.

Após o sacrifício dos animais, coletou-se o sangue em tubos previamente heparinizados (Liquemine) e retirou-se os seguintes órgãos: olhos, tireóide, pulmão, coração, baço, fígado, estômago (sem conteúdo), intestinos (com conteúdo), rins, músculo (fração anterior da coxa esquerda) e cérebro. Os órgãos foram lavados, pesados, colocados em tubos apropriados e contados em contador gama tipo poço Camberra. A cauda foi também cortada e contada para posterior correção da captação do padrão de IMP-¹³¹I.

Além da coleta dos órgãos citados, retirou-se também uma fração de gordura da cavidade abdominal nos tempos 16, 24 e 48 horas e, a medula espinhal dorsal nos tempos de 1, 15 e 30 minutos e, 1 e 2 horas para verificação da captação do radiofármaco nesses tecidos, que passaram pelo mesmo tratamento dado aos demais órgãos.

Nos tempos de 16, 24 e 48 horas após receberem doses de IMP-¹³¹I por via venosa, outros animais foram colocados individualmente em gaiolas e, as fezes de cada animal foram coletadas, pesadas e a radioatividade detectada em um contador gama.

Retirou-se 100 μL do sangue coletado de cada animal, para determinação da porcentagem de dose do radiofármaco. Colocou-se o restante em tubos de fundo cônico, centrifugou-se a 3000 r.p.m. por 15 minutos e, separou-se uma alíquota de 100 μL de plasma. A radioatividade contida em cada amostra, foi avaliada em um contador gama tipo poço.

Para o cálculo das porcentagens das doses administradas em cada animal, procedeu-se da seguinte maneira: diluiu-se uma amostra correspondente à atividade injetada de IMP- ^{131}I (1,11-1,48 MBq/100 μL) com água destilada em um balão volumétrico de 10 - 25 mL. A partir dessa diluição retirou-se um volume de 1 mL para avaliação da radioatividade em um contador gama (foram feitas triplicatas). Calculou-se a média, multiplicou-se por 10 ou 25 (conforme balão volumétrico utilizado na diluição) e desse valor, subtraiu-se a contagem da atividade obtida em cada cauda. O valor resultante serviu como padrão de referência para cada camundongo.

Após a contagem do sangue, plasma e órgãos, realizou-se os cálculos de acordo com as equações 1 e 2:

$$\% \text{Dose/órgão} = \frac{\text{cpm órgão}}{\text{cpm padrão}} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

$$\% \text{Dose/g de tecido} = \frac{\% \text{Dose/órgão}}{\text{peso órgão correspondente}} \quad (\text{Equação 2})$$

Os cálculos da %Dose de sangue total, da %Dose de plasma total, da volemia e do volume plasmático, foram determinados de acordo com Altman e col. ⁽⁵⁾, segundo as equações 3, 4, 5 e 6 abaixo descritas:

$$\text{VOLEMIA (mL)} = \text{Peso corpóreo do animal (g)} \times 0,0778 \text{ (mL/g)} \quad \text{(Equação 3)}$$

$$\% \text{DOSE SANGUE TOTAL} = \text{cpm de 1 mL de sangue} \times \text{volemia} \quad \text{(Equação 4)}$$

$$\text{VOLUME PLASMÁTICO (mL)} = \text{Peso corpóreo do animal (g)} \times 0,0488 \text{ (mL/g)} \\ \text{(Equação 5)}$$

$$\% \text{DOSE PLASMA TOTAL} = \text{cpm de 1 mL de plasma} \times \text{volume plasmático} \\ \text{(Equação 6)}$$

Para a determinação da %Dose músculo total, considerou-se o cálculo de Jones e col. ⁽⁵³⁾, como demonstrado na equação 7:

$$\% \text{DOSE MÚSCULO TOTAL} = 40\% \text{ peso corpóreo animal (g)} \times \text{cpm de 1g de} \\ \text{músculo} \quad \text{(Equação 7)}$$

3.2.5.2 - Estudo de Captação de Corpo Inteiro do IMP-¹³¹I em Animal de Pequeno Porte

Para o estudo de corpo inteiro, injetou-se o IMP-¹³¹I (1,11-1,48 MBq/100 µL) pela veia caudal e os tempos de sacrifício pós-administração foram de: 30 minutos e 2, 6, 24 e 48 horas. Nesse experimento utilizou-se 4 a 5 camundongos (n) por tempo.

Para cada tempo pré-determinado, os animais foram sacrificados por imersão em nitrogênio líquido. Após o congelamento, seus corpos foram seccionados em pequenas fatias com guilhotina especial, para animais pequenos. Os segmentos foram colocados em tubos apropriados e a radioatividade avaliada em contador gama tipo poço, Camberra. Totalizada a somatória das contagens dos segmentos de cada animal, calculou-se a porcentagem da radioatividade retida em cada organismo (equação 8), com relação ao padrão de referência da dose administrada (conforme como descrito no item 3.2.5.1).

$$\% \text{DOSE CORPO INTEIRO} = \frac{\Sigma \text{ cpm dos segmentos}}{\text{cpm padrão dose administrada}} \times 100 \text{ (Equação 8)}$$

3.2.5.3 - Estudo *in vitro* para Determinação da Porcentagem de Ligação do IMP-¹³¹I às Proteínas Plasmáticas em Animal de Pequeno Porte

Avaliou-se a porcentagem de ligação do radiofármaco às proteínas plasmáticas pelo método de precipitação proteica com ácido tricloroacético (TCA 10%) ^(23,137).

Obteve-se o plasma a partir de amostra de sangue heparinizado, coletado aos 15, 30 e 60 minutos após administração intravenosa do IMP-¹³¹I e centrifugação por 15 minutos a 3000 r.p.m.. Determinou-se a radioatividade contida em um volume de 200 µL de plasma [contagem por minuto (cpm) total]. Para cada tempo especificado, três camundongos foram sacrificados e cada determinação foi feita em duplicata.

Após a contagem, adicionou-se ao plasma 1 mL de solução de TCA 10% para precipitação das proteínas plasmáticas e agitou-se por 1 min em vórtex. Depois de incubado em banho de gelo por 15 minutos, centrifugou-se por mais 15 minutos a

3000 r.p.m.. O sobrenadante foi colocado em outro tubo e repetiu-se o processo por mais duas vezes, igualmente como descrito acima. A radioatividade das três amostras de sobrenadante e seus respectivos precipitados, foi determinada em contador gama (cpm precipitado).

A determinação da porcentagem de ligação do IMP-¹³¹I às proteínas plasmáticas foi calculada pela seguinte equação:

$$\% \text{ de Ligação às Proteínas Plasmáticas} = \frac{\text{cpm precipitado}}{\text{cpm total (200 } \mu\text{L de plasma)}} \times 100$$

(Equação 9)

3.2.5.4 - Estudo Radiofarmacocinético do IMP-¹³¹I em Animal de Pequeno Porte

O estudo farmacocinético possibilita descrever a alteração na concentração de fármacos e seus metabólitos nos vários fluídos do organismo e tecidos, em função do tempo. Equações matemáticas e modelos são utilizados para descreverem os resultados experimentais que permitem a obtenção de parâmetros farmacocinéticos de interesse ⁽¹⁰⁾.

A análise compartimental representa um modelo utilizado para definir quantitativamente a distribuição de um fármaco no organismo, em função do tempo. Um compartimento é um volume real de distribuição potencial do fármaco, podendo ser representado por um conjunto de órgãos com características semelhantes de irrigação e afinidade pelo fármaco ⁽¹⁰⁾.

A maioria dos radiofármacos apresenta distribuição por difusão passiva, podendo ser representado por modelos de distribuições multicompartmentais ⁽¹⁰⁾.

A cinética sangüínea difere de acordo com o composto e também de acordo com a via de administração. No caso de administração intravenosa, a curva pode assumir a forma de uma simples exponencial, a uma série de exponenciais ⁽¹⁰⁾.

A análise da curva sangüínea para obtenção da equação exponencial que a representa, pode ser feita utilizando-se programas de computador adequados.

Murphy ⁽⁸²⁾ desenvolveu um programa denominado BIEXP.BAS que ajusta a curva de clareamento sangüíneo, por meio de um modelo matemático, em duas exponenciais (curva bi-exponencial): uma de decaimento rápido e outra de decaimento lento, sugerindo a presença de dois compartimentos (Equação 10).

$$C(t) = A.e^{-\alpha.t} + B.e^{-\beta.t} \quad \text{(Equação 10)}$$

onde:

- **C**: concentração sangüínea em um determinado tempo (cpm/min.mL);
- **A e B**: constantes relacionadas à concentração inicial [$C_0 = C(t = 0) = A + B$]:
 - ◆ **A**: corresponde a intersecção da fase inicial (rápida) da curva de decaimento rápido no eixo das ordenadas (cpm/min.mL);
 - ◆ **B**: corresponde a intersecção da fase lenta da curva de decaimento no mesmo eixo (cpm/min.mL).
- α e β : constantes de velocidade de transferência ou eliminação, indicam a velocidade de trocas das concentrações de radioatividade nos diferentes compartimentos e são a base dos logaritmos naturais em função do tempo:
 - ◆ α : constante de eliminação rápida (h^{-1});
 - ◆ β : constante de eliminação lenta (h^{-1}).
- **t**: tempo (h).

A curva bi-exponencial traçada, consiste em uma fase inicial rápida (distribuição no compartimento central) seguida de uma fase lenta (equilíbrio e eliminação no compartimento periférico).

A figura 3 representa um modelo bi-compartimental aberto ⁽⁸²⁾.

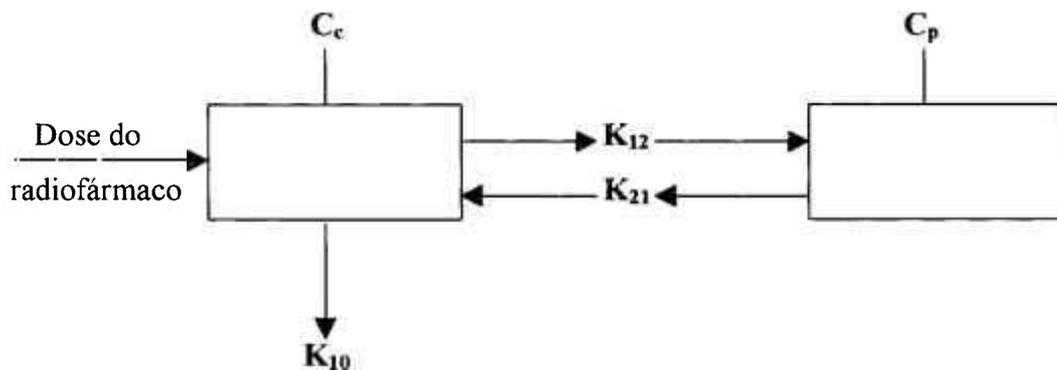


Figura 3 – Esquema de um modelo bi-compartimental aberto

onde:

C_c = compartimento central;

C_p = compartimento periférico;

K_{12} = constante de transferência de C_c para C_p (h^{-1});

K_{21} = constante de transferência ou difusão de C_p para C_c (h^{-1});

K_{10} = constante de eliminação de C_c (h^{-1}).

O compartimento central corresponde ao compartimento sanguíneo, sendo este que recebe o radiofármaco e o distribui pelo organismo e realiza também a sua eliminação.

O compartimento periférico corresponde ao compartimento onde ocorre a metabolização e o equilíbrio do radiofármaco no organismo.

Portanto, aplicando-se os dados sanguíneos ao programa BIEXP.BAS⁽⁸²⁾, obtêm-se uma equação matemática que define uma curva bi-exponencial.

O programa BIEXP.BAS⁽⁸²⁾ determina também as microconstantes de transferências (K_{12} e K_{21}), a microconstante de eliminação (K_{10}) e as meias-vidas ($t_{1/2}$) de cada componente exponencial.

Os dados experimentais introduzidos no programa BIEXP.BAS⁽⁸²⁾ foram os dados sanguíneos obtidos na distribuição biológica do IMP-¹³¹I, expressos em %Dose sangue total com seus respectivos desvios padrões em seus respectivos tempos de: 1 (0,02 h), 5 (0,08 h), 15 (0,25 h), 30 minutos (0,50 h) e, 1, 2, 4, 6, 16 e 24 horas.

Foram introduzidos os dados de %Dose sangue total e a equação obtida com o programa BIEXP.BAS, ao programa computacional MSEXcel, obtendo-se a curva bi-exponencial que expressou o comportamento bi-exponencial do radiofármaco no organismo.

3.2.5.5 - Estudo de Imagens Cintilográficas do IMP-¹²³I em Animal de Médio Porte

Para realização desse estudo, marcou-se o IMP com solução de Na¹²³I, para obtenção do IMP-¹²³I, seguindo-se a mesma metodologia utilizada para o IMP-¹³¹I.

As imagens foram adquiridas em coelho da raça *New Zeland*, pesando aproximadamente 3,5 kg, posicionado-o em decúbito ventral (para aquisição de imagem frontal) e dorsal (para aquisição de imagem lateral), após a injeção do IMP-¹²³I (55,5 MBq/0,7 mL) na veia lateral da orelha direita do animal. Manteve-se o coelho imobilizado

durante todo o procedimento. As imagens foram adquiridas na câmara de cintilação do Centro de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas (C.M.N. – H.C.), com colimador de baixa energia e alta resolução, nos tempos 20 (frontal) e 60 minutos (lateral), após administração da dose. Para obtenção das referidas imagens o aparelho foi preparado para um total de 300.000 contagens.

3.2.5.6 – Ensaio de Segurança Toxicológica do IMP-¹³¹I em Animal de Pequeno Porte ⁽¹²²⁾

A DL₅₀ ⁽¹²⁰⁾ da anfetamina em ratos corresponde a 180 mg/1 Kg. Por ser o IMP um derivado da anfetamina, considerou-se este dado como base de análise para realização do ensaio.

Wintrobe e col. ⁽¹³³⁾, relataram que o ser humano saudável apresenta endogenamente, 100 - 150 mg de cobre em sua composição, encontrando-se 64 mg na massa muscular, 23 mg nos ossos e 18 mg no fígado.

No ensaio de segurança toxicológica em animais de pequeno porte, observou-se os prováveis fatores que provocariam efeitos fisiológicos (manifestações) nos animais, após aplicação intravenosa, que são: sensação apnêica, edema nas regiões das narinas e olhos e, possíveis alterações no comportamento do animal ⁽¹²²⁾.

Utilizou-se na marcação para obtenção do IMP-¹³¹I: 3 mg IMP e 0,025 mg/50 µL de CuSO₄.5H₂O (6,3625 µg de Cu⁺⁺/50 µL). A atividade final do radiofármaco obtido foi de 407 MBq/3,0 mL de solução fisiológica.

O produto obtido apresentou-se apirogênico, com ausência de microorganismos e uma pureza radioquímica de 97,39 ± 0,08% de IMP-¹³¹I.

Injetou-se uma dose de IMP-¹³¹I de 12,95 - 13,32MBq/100μL (350 - 360 μCi/100μL), em quatro camundongos pesando entre 15 – 25 g, onde, considerou-se como média, 20g de massa corpórea por camundongo, para realização dos cálculos das massas de IMP e de Cu⁺⁺ injetadas, que corresponderam a 0,1 mg/100μL e 0,2118 μg/100μL. Os animais foram mantidos isolados, em gaiolas com alimentação *ad libitum* e água com livre acesso. O comportamento foi monitorado por um período de 72 horas.

*“... O homem correto age por uma Lei Interna,
e não por mandamentos externos.
Bebe as águas da Fonte,
e não dos canais.
Transcende estes
e vai sempre à Origem Daquele ...”*

Prof. Marcelo Pereira de Souza

4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 - ANÁLISES QUÍMICAS DO CLORIDRATO DE N-ISOPROPIL-p-iodoANFETAMINA (IMP)

4.1.1 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A) Ponto de Fusão (PF) e Análise Elementar

A Tabela 2 apresenta os dados obtidos nas análises de PF e Análise Elementar do IMP.

Tabela 2 - Ponto de Fusão e Análise Elementar do IMP

PONTO DE FUSÃO (°C)			ANÁLISE ELEMENTAR (%)		
EXPERIMENTAL		TEÓRICO	ELEMENTO	EXPERIMENTAL	CALCULADO ⁽²⁰⁾
IPEN	FCF-USP	LITERATURA ⁽¹²⁰⁾	C	42,13	42,43
165,3	166	156 - 158	H	5,53	5,64
-	-	-	N	4,07	4,13

Analisando-se os dados experimentais, observou-se uma variação no ponto de fusão (literatura⁽¹²⁰⁾ e experimental), atribuindo-se esta diferença provavelmente aos sistemas de solventes utilizados para purificação do IMP (Experimental: acetona/etanol e Literatura⁽¹²⁰⁾: éter).

B) Espectrofotometria na Região do Infravermelho (IV)

Conforme observado na figura 4, identificou-se as seguintes bandas de absorção correspondentes aos grupamentos ⁽²⁵⁾:

- **Amina secundária:** 711,4 cm^{-1} de frequência;
- **Anel aromático 1,4 dissustituído:** 810,3 cm^{-1} de frequência;
- **Ar-I:** 1095 - 1138 cm^{-1} de frequência;
- **C-C aromático:** 1464 - 1484 cm^{-1} de frequência;
- **C-H alifático:** 2790,6 - 2968 cm^{-1} de frequência;
- **N-H cloridrato:** 3122 - 3394 cm^{-1} de frequência.

Observando-se o espectro de IV do IMP, constatou-se a presença das principais bandas de absorção correspondentes à estrutura química do N-isopropil-p-iodoanfetamina (Amina secundária – 711,4 cm^{-1} e Anel aromático 1,4 dissustituído - 810,3 cm^{-1}).

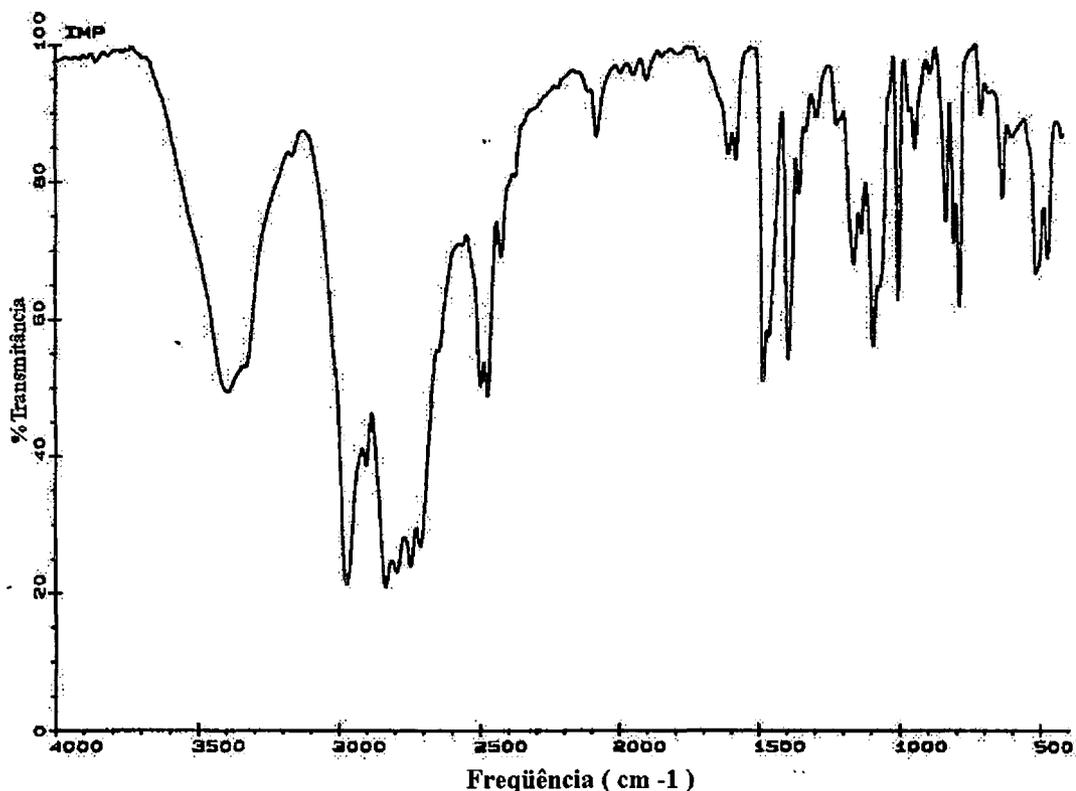


Figura 4 - Espectro de Infravermelho do IMP em KBr

C) Espectroscopia de Ressonância Nuclear Magnética (RNM)

As figuras 5 e 6 representam os espectros ^{13}C RNM simulados do N-isopropil-p-iodoanfetamina e N-isopropil-m-iodoanfetamina, respectivamente, obtidos pelo programa de computador ACD-LABS. A figura 7 corresponde ao espectro ^{13}C RNM experimental da amostra do Cloridrato de N-isopropil-p-iodoanfetamina.

Analisando-se a figura 5, observou-se que no espectro desacoplado de ^{13}C , a molécula do IMP é composta por doze átomos de carbono, e o C-5 e C-3 têm picos coincidentes, assim como, C-6 e C-2, e C-11 e C-12, o que não se obtêve no espectro da figura 6, pois, apenas o C-11 e C-12 é que estavam coincidindo.

A figura 7 representa o espectro experimental da amostra de IMP e, analisando-se este da direita para a esquerda temos os três primeiros picos: 15,768; 19,089 e 20,222 ppm correspondentes aos C-11, C-12 e C-9 (-CH₃). O fato de cada um destes carbonos terem três átomos de hidrogênio e pela regra de blindagem nos hidrocarbonetos, quanto maior o número de átomos de hidrogênio ligados ao átomo de carbono, mais blindado fica o átomo de carbono, posicionando o pico correspondente à direita da escala do espectro.

O pico 39,401 ppm (figura 7) correspondeu ao C-7 (-CH₂-), pois encontra-se menos blindado que os C-11, C-12 e C-9 (-CH₃) citados anteriormente. Os picos 48,119 e 53,251 ppm indicaram ser os átomos de carbono C-10 e C-8 (-CH-) respectivamente, por encontrarem-se menos blindados que o C-7.

De acordo com Silverstein ⁽¹⁰⁶⁾, sabe-se que o iodo aromático desblinda mais intensamente os carbono-β (C-5 e C-3) e menos intensamente os carbono-γ (C-1), como blinda também o carbono-α (C-4). Segundo estes pesquisadores ⁽¹⁰⁶⁾, tem-se que, o pico de um benzeno não substituído corresponde ao 128,5 ppm:

$$128,5 \pm X = Y \text{ (ppm)} \quad \text{(Equação 11)}$$

onde:

X = blindagem (-) ou desblindagem (+) provocada pelo iodo no anel aromático

e

Y = deslocamento do pico calculado em ppm

Portanto, utilizando-se a equação 11, chega-se aos seguintes dados:

➤ Para C-5 e C-3 $\rightarrow X = +9,9$

O pico correspondente a este valor na figura 7 é o 138,252 ppm.

➤ Para C-6 e C-2 $\rightarrow X = +2,6$

O pico que corresponde a este valor na figura 7 é o 131,689 ppm.

➤ Para C-4 $\rightarrow X = -32,2$

Este valor corresponde na figura 7 ao pico 92,846 ppm.

Não se fez esse tipo de cálculo para o C-1, porque, segundo a teoria proposta por Silverstein ⁽¹⁰⁶⁾, esta é aplicada à compostos monossustituídos, ou seja, é utilizada apenas para carbonos não ramificados (C-5, C-3, C-6 e C-2) e para o próprio carbono monossustituído (C-4).

Outra evidência concreta, é que a amostra de IMP é isômero *para*. Analisando-se as intensidades dos picos dos espectros simulado (figura 5) e experimental (figura 7), onde o pico menos intenso (figura 7, 136,670 ppm) corresponde a um átomo de carbono, e os mais intensos (138,252 e 131,689 ppm) correspondem a soma dos sinais de dois átomos de carbono, enquanto que a figura 5 mostra intensidades semelhantes aos picos correspondentes (C-1, C-5 e C-3, e C-6 e C-2), o que não se observa, na figura 6, onde existe um pico para cada carbono (C-1, C-2, C-4, C-5 e C-6).

Os picos referentes a 77,036, 77,460 e 77,883 ppm (figura 7) correspondem ao solvente utilizado na ¹³C RNM, clorofórmio deuterado (CDCl₃).

Concluiu-se então, que o produto utilizado era o isômero N-isopropil-p-iodoanfetamina, pelas semelhanças apresentadas pelas figuras 5 e 7, diferindo do isômero N-isopropil-m-iodoanfetamina apresentado pela figura 6.

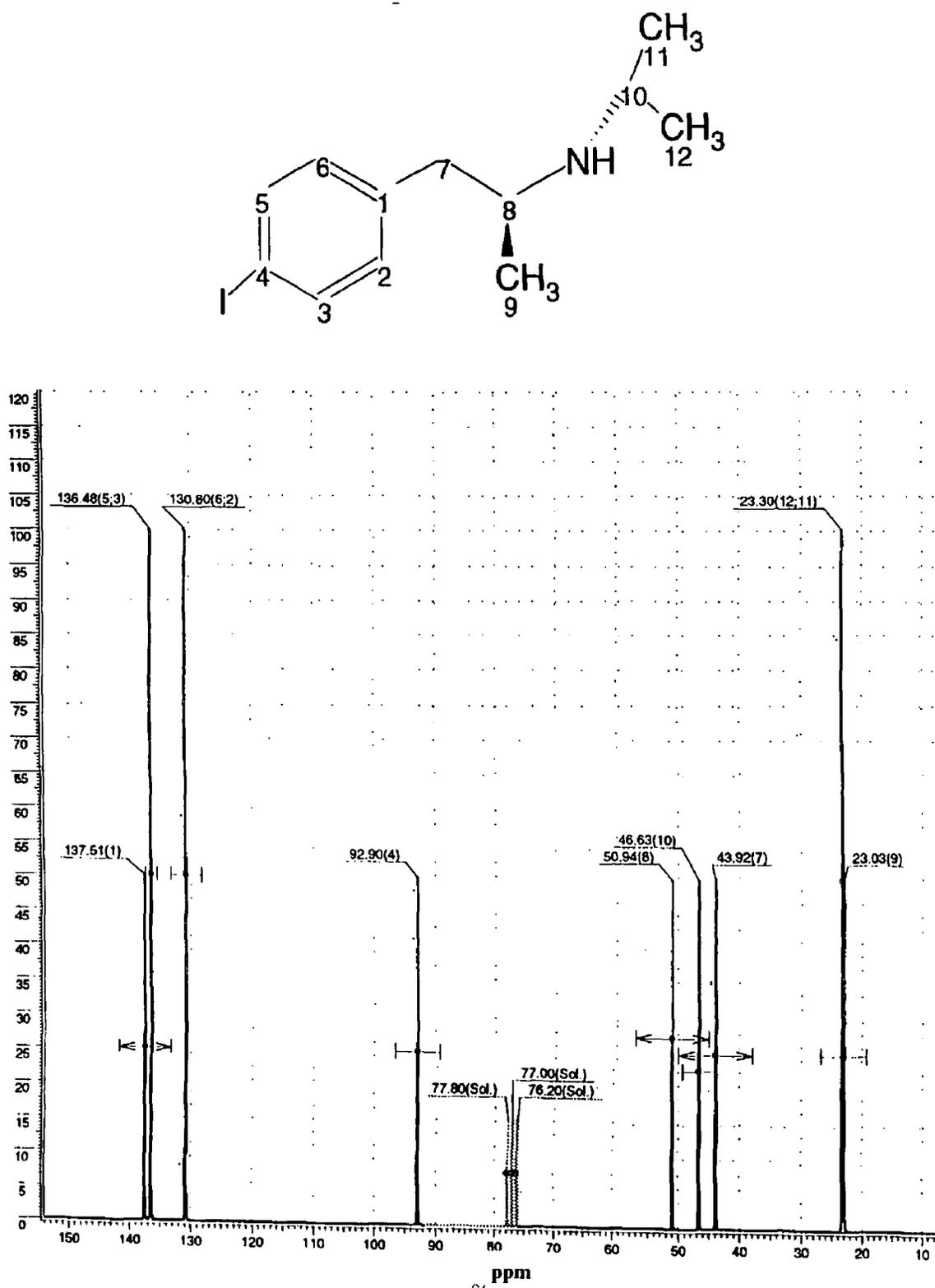


Figura 5 - Espectro simulado de ^{13}C RNM do N-isopropil-p-iodoanfetamina (Programa ACD-LABS)

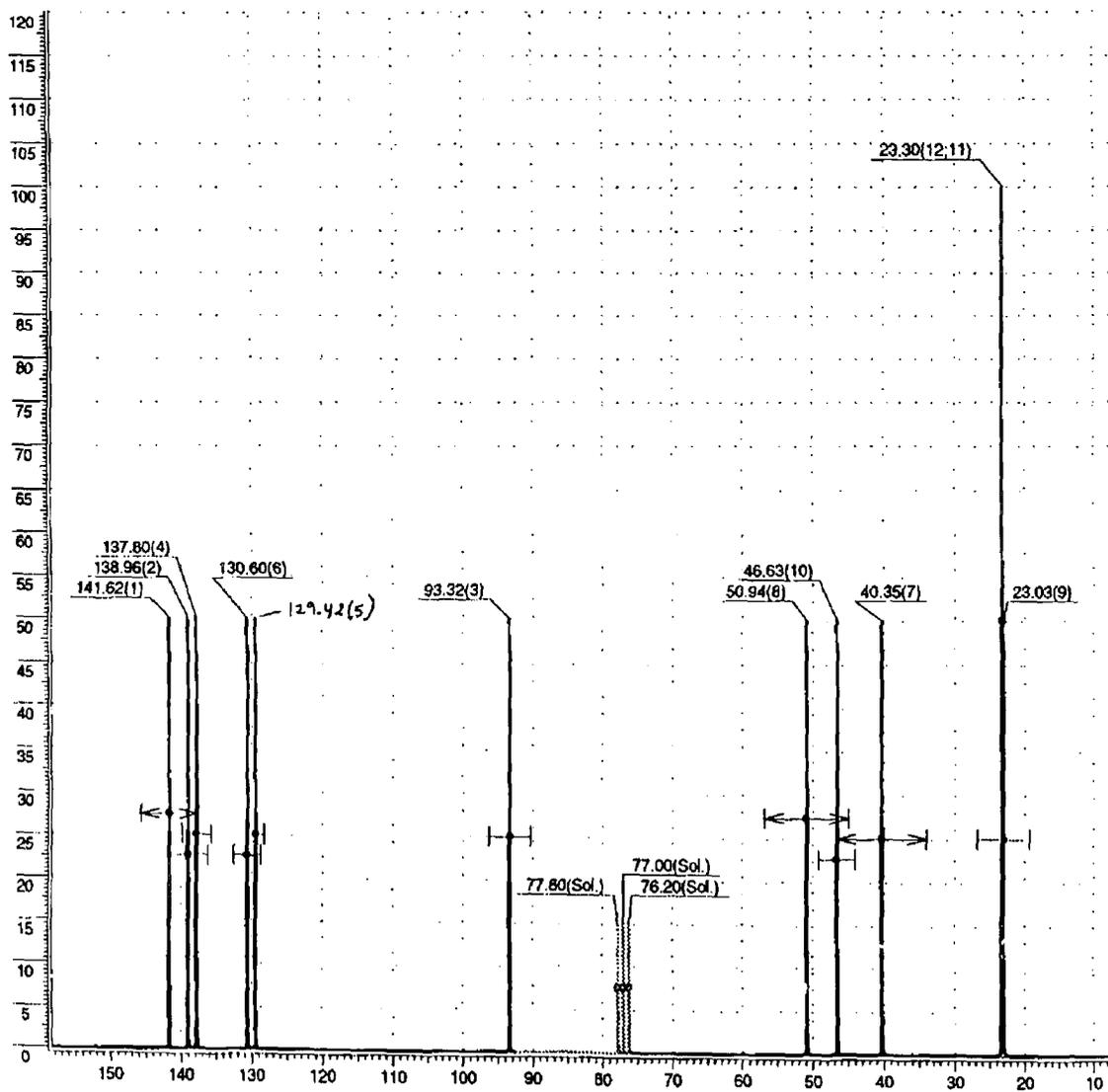
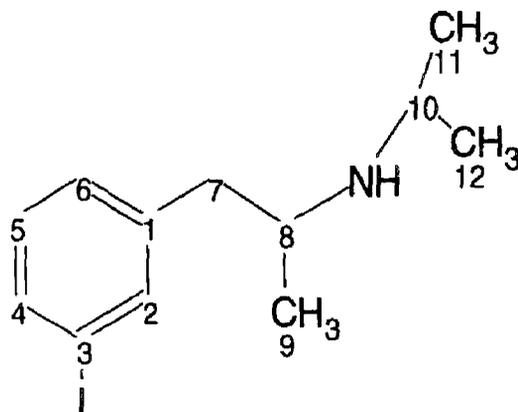


Figura 6 - Espectro simulado de ^{13}C RNM do N-isopropil-m-iodoanfetamina (Programa ACD-LABS)

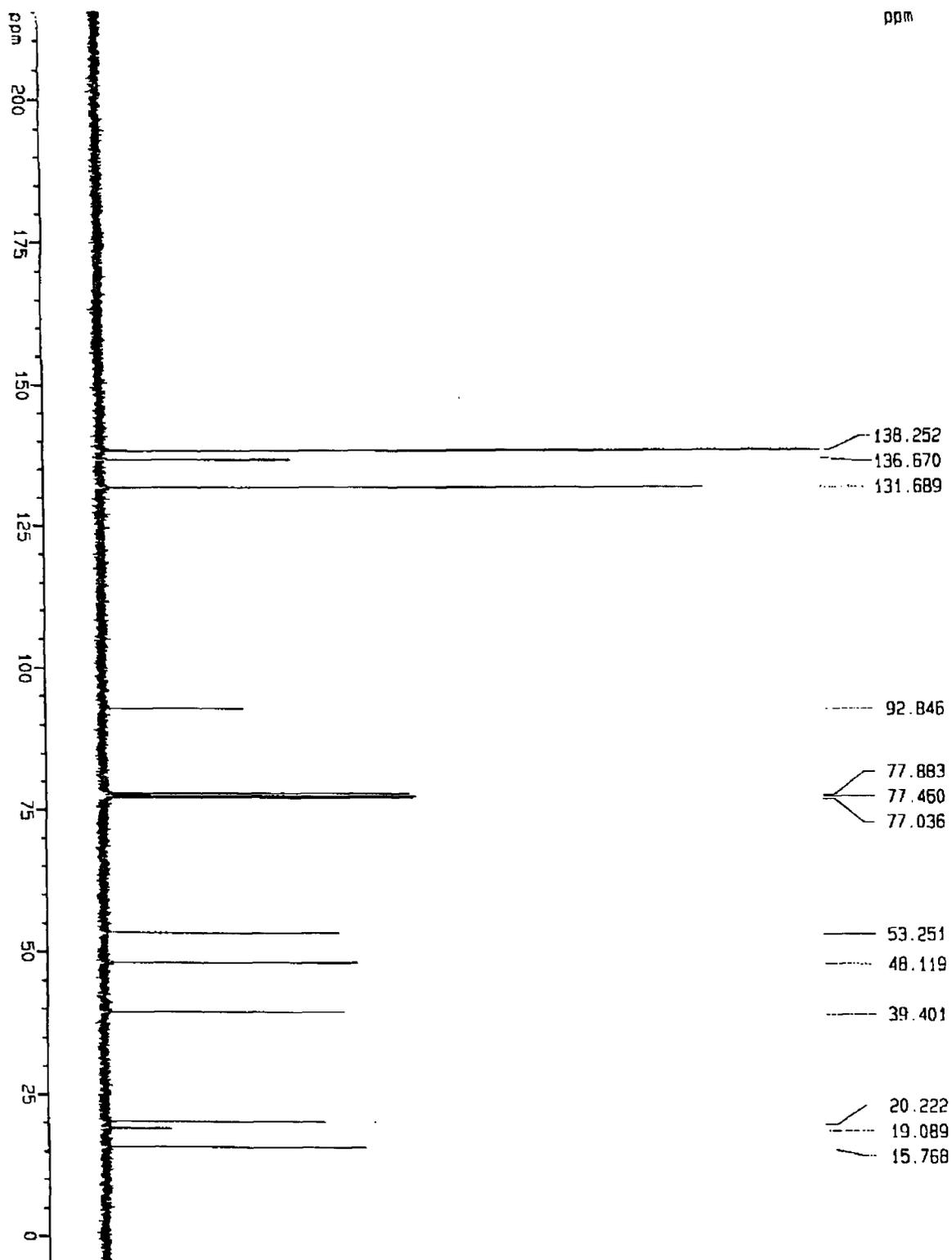


Figura 7 - Espectro experimental de ^{13}C RNM do N-isopropil-p-iodoanfetamina

4.1.2 – ANÁLISES EM CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

As figuras 8 e 9 apresentam os espectros da CLAE, conforme descrito por Angelberger e col. ⁽⁷⁾ para o primeiro sistema utilizado, das amostras de IMP e água destilada purificada, respectivamente.

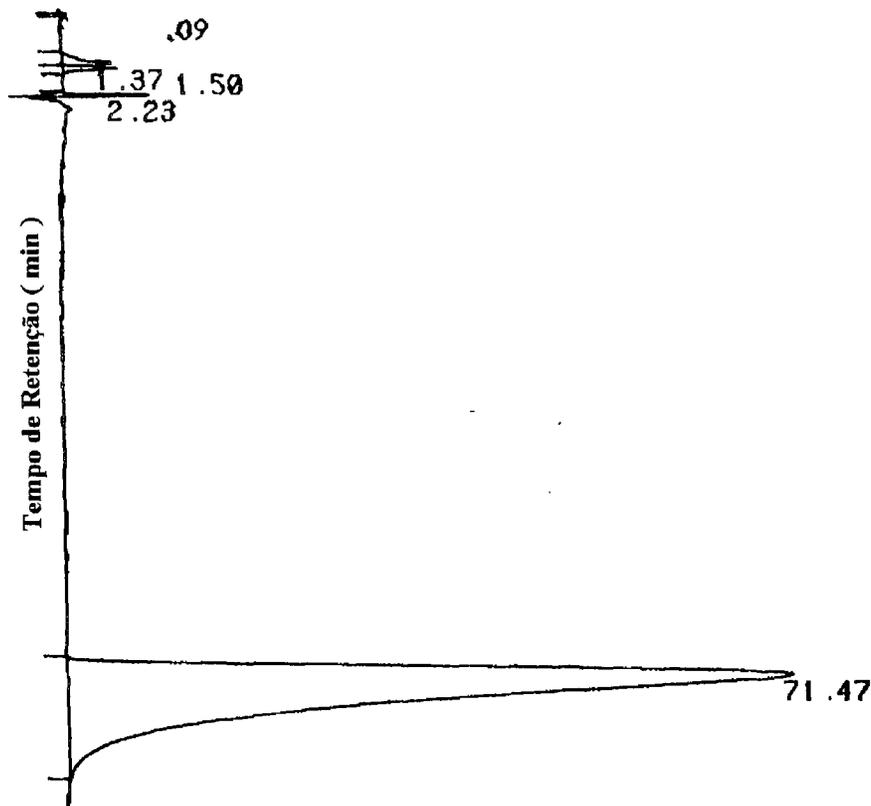


Figura 8 - Espectro da CLAE do IMP
Coluna RP-C₁₈ (250 x 4,6 mm; 10 μm); Etanol:H₂O:NH₄OH (60:40:1); 1,4 mL/min

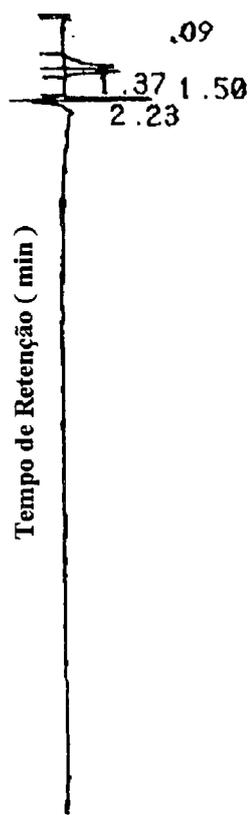


Figura 9 - Espectro da CLAE da água destilada purificada
Coluna RP-C₁₈ (250 x 4,6 mm; 10 μm); Etanol:H₂O:NH₄OH (60:40:1); 1,4 mL/min

Analisando-se os perfis dos cromatogramas CLAE obtidos nas figuras 8 e 9, observou-se que há um único pico do IMP com tempo de retenção (Rt) igual a 71,47 minutos, e que os picos iniciais correspondem a água destilada purificada, meio de dissolução do IMP (figura 9).

As figuras 10 e 11 apresentam os espectros da CLAE das amostras de IMP e água destilada purificada, respectivamente, conforme descrito por Angelberg e col. ⁽⁷⁾ para o segundo sistema utilizado.

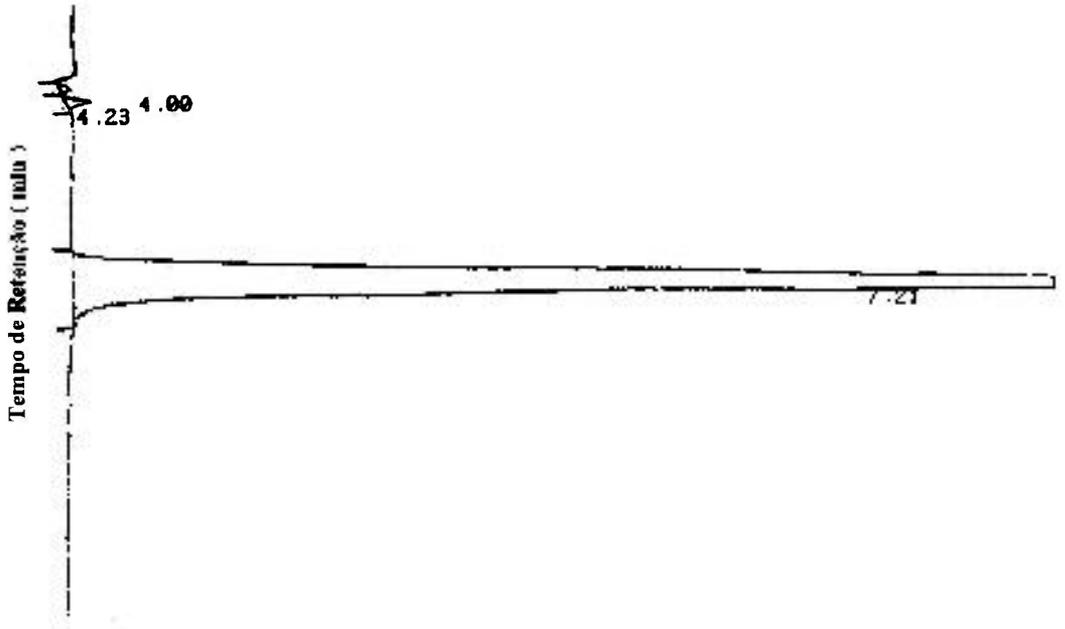


Figura 10 - Espectro da CLAE do IMP
 Coluna RP-C₁₈ (250 x 4,6 mm; 10 μm); Etanol:H₂O:Acetato de amônio:Ácido acético glacial (55:43:1:1); 1 mL/min

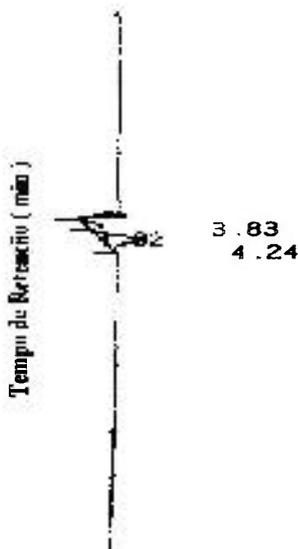


Figura 11 - Espectro da CLAE da água destilada purificada
 Coluna RP-C₁₈ (250 x 4,6 mm; 10 μm); Etanol:H₂O:Acetato de amônio:Ácido acético glacial (55:43:1:1); 1 mL/min

Comparando-se os cromatogramas obtidos para o IMP dissolvido em água destilada purificada e o da própria água (figuras 10 e 11), verificou-se a presença na figura 10, do IMP com $R_t = 7,21$ minutos e, os picos com $R_t = 3,83$; $4,02$ e $4,24$ minutos, correspondem, a água, conforme observa-se na figura 11.

Todavia, ao comparar-se os R_t obtidos nas figuras 8 e 11, escolheu-se o segundo sistema de Angelberg e col. ⁽⁷⁾ para dar continuidade às análises, por apresentar um R_t do IMP menor.

4.2- MÉTODOS UTILIZADOS NA AVALIAÇÃO DA PUREZA RADIOQUÍMICA DO IMP-¹³¹I

4.2.1 - CROMATOGRÁFIA DE PARTIÇÃO (PAPEL WHATMAN) EM SISTEMA ASCENDENTE ^(33,36)

As figuras 13 e 14 mostram os perfis de desenvolvimento radiocromatográficos ascendentes em papel Whatman 3 MM do IMP-¹³¹I e Na¹³¹I, respectivamente, detectados pelo radiocromatógrafo Berthold.

As porcentagens das áreas calculadas nos perfis dos radiocromatogramas corresponderam a:

- **Figura 13** → Pico 1 = 2,60% de ¹³¹I e Pico 2 = 97,40% de IMP-¹³¹I.
- **Figura 14** → Pico 1 = 99,83% de ¹³¹I e Pico 2 = 0,17% outras formas químicas de impurezas do Na¹³¹I.

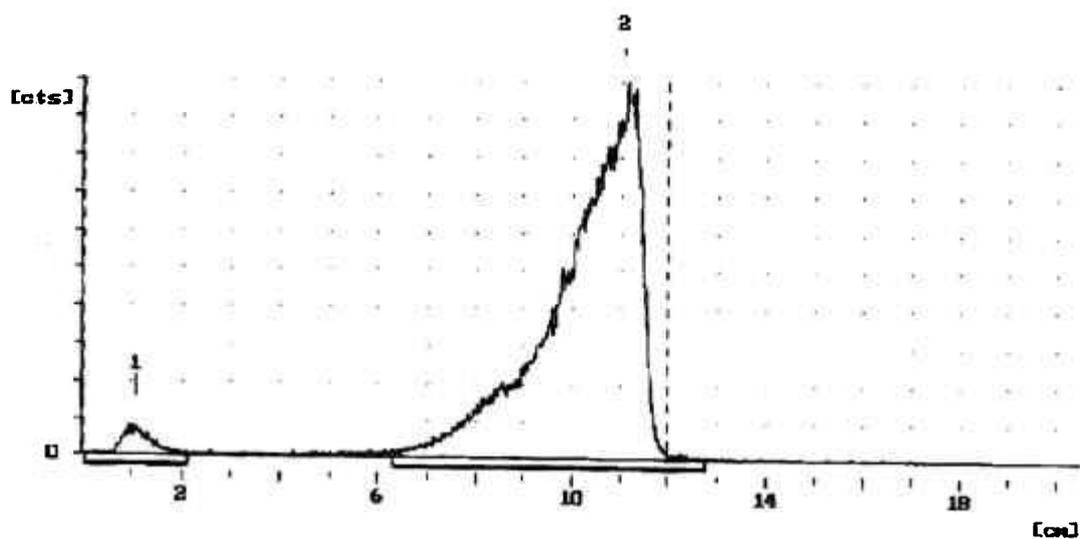


Figura 13 - Perfil do radiocromatograma do IMP-¹³¹I avaliado pelo sistema de cromatografia ascendente em papel Whatman 3 MM

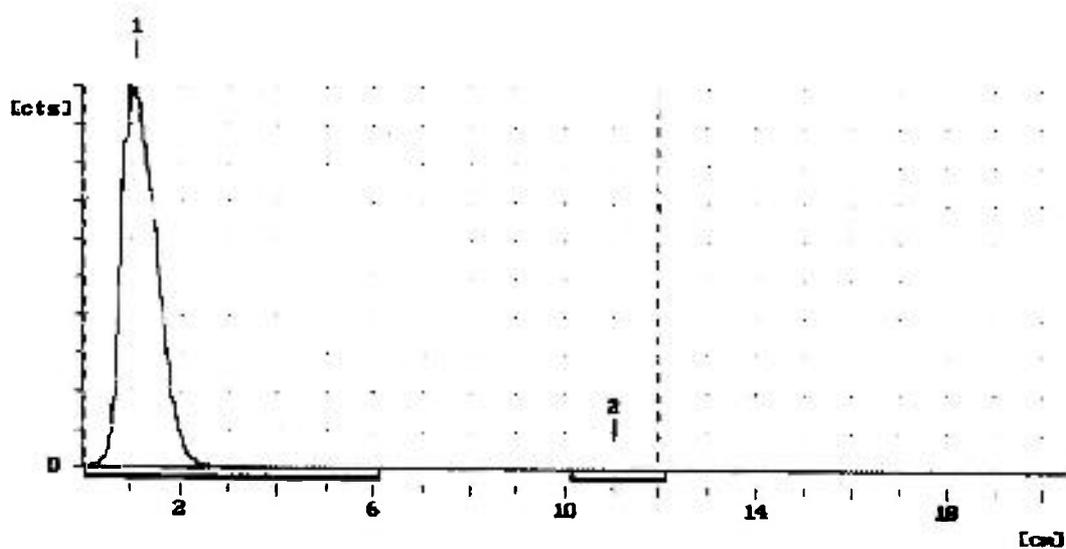


Figura 14 - Perfil do radiocromatograma do Na¹³¹I avaliado pelo sistema de cromatografia ascendente em papel Whatman 3 MM

Os radiocromatogramas apresentados demonstraram a eficiência do sistema utilizado para separação do IMP-¹³¹I e Na¹³¹I.

Tendo sido obtido valores de Rf iguais para ambos os sistemas, optou-se então pelo sistema cromatográfico de partição em papel Whatman 3 MM para determinação da pureza radioquímica do IMP-¹³¹I.

4.2.2 - CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

Realizou-se a CLAE das amostras de IMP-¹³¹I e Na¹³¹I, para demonstrar a eficiência do método de cromatografia de partição em papel Whatman 3MM, escolhido para determinação da pureza radioquímica do radiofármaco.

Nas figuras 15 e 16 verificou-se os perfis das curvas da CLAE para o IMP-¹³¹I e Na¹³¹I, em função do tempo de retenção, respectivamente.

Os tempos de retenções do IMP-¹³¹I e Na¹³¹I obtidos corresponderam:

- **Figura 15** → Pico 1 = ¹³¹I⁻ (Rt = 3,48 minutos) e Pico 2 = IMP-¹³¹I (Rt = 7,21 minutos).
- **Figura 16** → Pico 1 = ¹³¹I⁻ (Rt = 3,48 minutos).

Portanto, verificou-se que o método cromatográfico escolhido, foi eficiente e confiável.

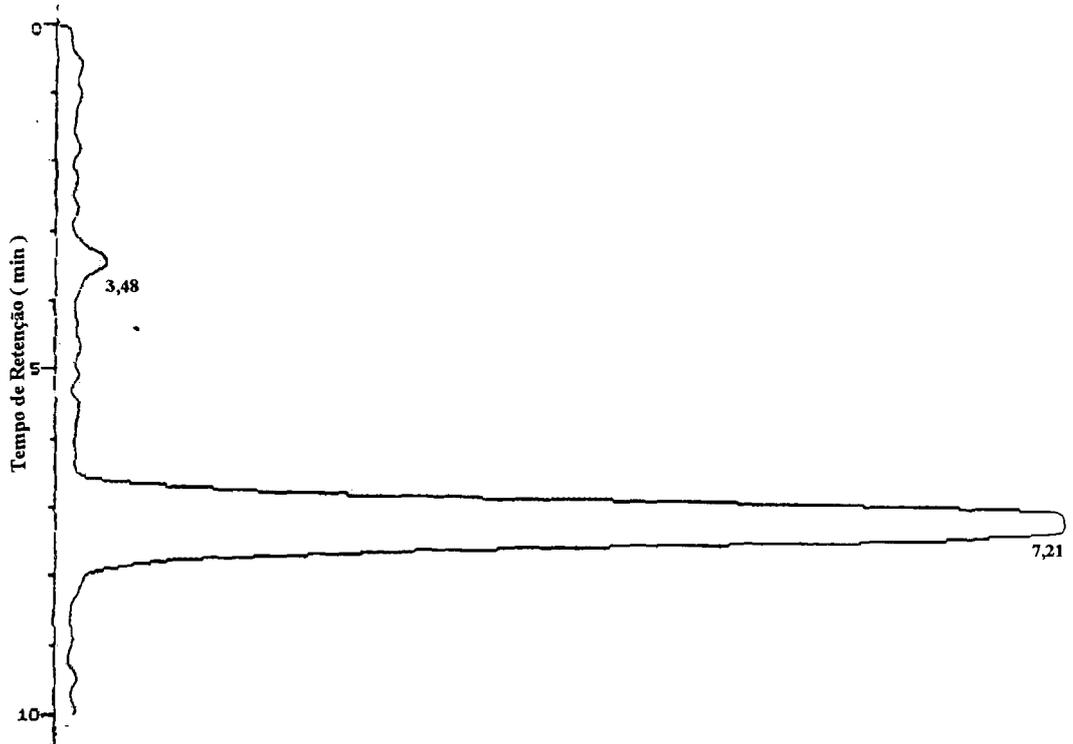


Figura 15 - Espectro da CLAE do IMP-¹³¹I
Coluna RP-C₁₈ (250 x 4,6 mm; 10 μm); Etanol:H₂O:Acetato de amônio:Ácido acético glacial (55:43:1:1); 1 mL/min

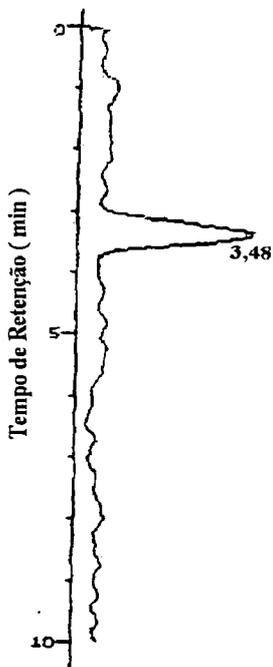


Figura 16 - Espectro da CLAE do Na¹³¹I
Coluna RP-C₁₈ (250 x 4,6 mm; 10 μm); Etanol:H₂O:Acetato de amônio:Ácido acético glacial (55:43:1:1); 1 mL/min

4.3 - ESTUDO DE OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE MARCAÇÃO DO IMP COM IODO-131

4.3.1 - PARÂMETROS AVALIADOS

4.3.1.1 - Temperatura de Reação (°C)

A tabela 3 apresenta os resultados expressos em porcentagem da pureza radioquímica do IMP-¹³¹I em relação à temperatura de reação.

Observou-se que até o intervalo de temperatura de 174 - 176 °C, ocorreu um aumento na porcentagem da pureza radioquímica do IMP-¹³¹I, diminuindo nos intervalos subseqüentes de 179 - 181 °C e 189 - 191 °C. Entretanto, o intervalo de 179 - 181 °C, apresentou um desvio padrão de $\pm 4,35$, significativo, porém ao término da reação verificou-se uma coloração amarelo escuro.

Analisando-se este fato, realizou-se um radiocromatograma do IMP-¹³¹I para o intervalo de 179 - 181 °C, utilizando-se o sistema cromatográfico em papel Whatman 3MM. Verificou-se a presença de outro pico além do IMP-¹³¹I (figura 12), indicando a formação de prováveis produtos de degradação que estariam ocorrendo neste intervalo de temperatura.

Tabela 3 - Porcentagem da pureza radioquímica do IMP-¹³¹I em função da temperatura de reação

TEMPERATURA (°C)	PUREZA RADIOQUÍMICA (%)
149 – 151	86,21 ± 3,46
159 – 161	86,37 ± 1,57
169 – 171	86,51 ± 2,86
174 – 176	91,43 ± 1,65
179 – 181	87,32 ± 4,35
189 – 191	89,14 ± 0,20

n = 6 - 9

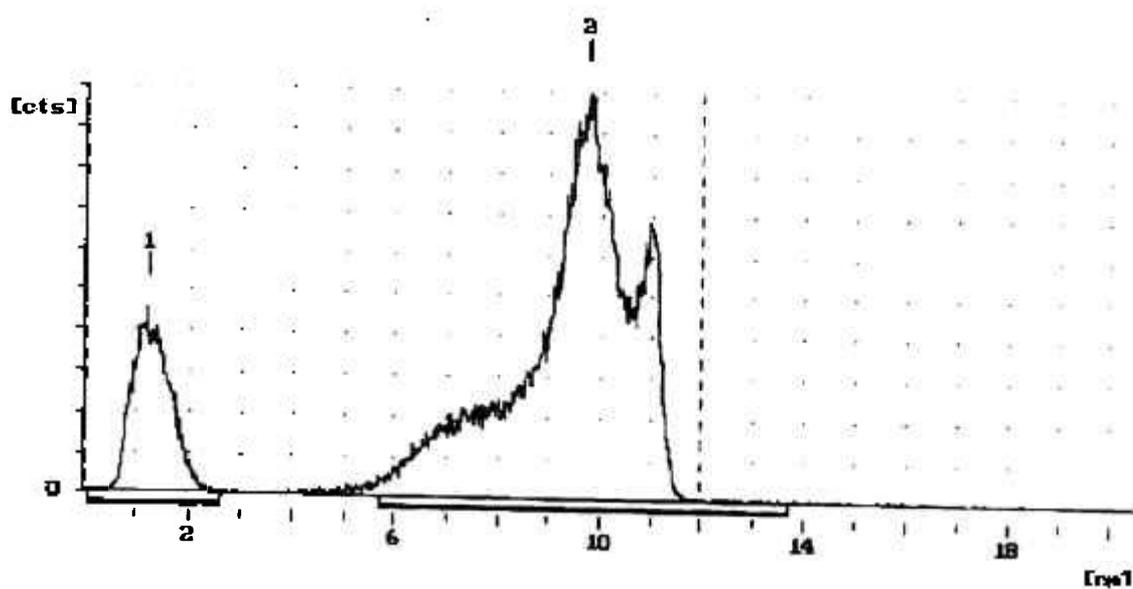


Figura 12 - Perfil do radiocromatograma do IMP-¹³¹I à 179 - 181 °C, determinado pelo sistema de cromatografia ascendente em papel Whatman 3 MM

4.3.1.2 - Tempo de Reação (minutos)

A porcentagem da pureza radioquímica do IMP-¹³¹I, em função do tempo de reação, encontra-se apresentada na tabela 4.

Observou-se na tabela 4, que há um acréscimo na porcentagem da pureza radioquímica do IMP-¹³¹I, com o aumento do tempo de reação. Entretanto, como o objetivo é futuramente marcar o IMP com ¹²³I e sendo este um radioisótopo de meia vida curta (13,2 horas) e, não havendo uma variação significativa no rendimento de marcação de 30 para 40 minutos, escolheu-se o tempo de 30 minutos.

Tabela 4 - Porcentagem da pureza radioquímica do IMP-¹³¹I em função do tempo de reação

TEMPO (min.)	PUREZA RADIOQUÍMICA (%)
10	83,32 ± 1,80
15	90,54 ± 2,25
20	93,73 ± 1,59
25	95,93 ± 2,10
30	98,01 ± 0,38
40	99,17 ± 0,21

n = 6 - 9

4.3.1.3 - Massa de Ácido Ascórbico (mg/ μ L)

A tabela 5 apresenta a variação da porcentagem da pureza radioquímica, em função da massa do catalisador, ácido ascórbico, e do seu volume de dissolução.

Verificou-se então que, para uma massa de ácido ascórbico de até 2,0 mg dissolvida em 10 μ L de água destilada purificada, houve um aumento da porcentagem da pureza radioquímica, entretanto, para as massas de 2,5 e 3,0 mg de ácido ascórbico dissolvidas em 20 μ L de água destilada purificada, ocorreu uma redução da porcentagem da pureza radioquímica do $\text{IMP-}^{131}\text{I}$. Foi verificado o mesmo resultado, quando foram realizadas outras marcações, com a introdução de um volume maior de Na^{131}I . Analisando-se estes dados, acreditou-se que o aumento do volume final de reação, era um dos fatores que diminuía a porcentagem da pureza radioquímica do $\text{IMP-}^{131}\text{I}$.

Tabela 5 - Porcentagem da pureza radioquímica do $\text{IMP-}^{131}\text{I}$ em função da variação da massa de ácido ascórbico pelo volume de água destilada purificada

MASSA DE ÁCIDO ASCÓRBICO (mg/μL)	PUREZA RADIOQUÍMICA (%)
0,5/10	78,56 \pm 1,53
1,0/10	97,56 \pm 1,61
1,5/10	98,39 \pm 1,37
2,0/10	98,01 \pm 0,38
2,5/20	96,73 \pm 1,21
3,0/20	96,76 \pm 1,86

n = 3 - 6

Estabeleceu-se portanto, uma massa de 2,0 mg de ácido ascórbico em 10 μ L de solução.

4.3.1.4 - pH Final de Reação

Na tabela 6 encontra-se demonstrada a variação da porcentagem da pureza radioquímica do IMP- 131 I em função do pH final de reação.

Tabela 6 - Porcentagem da pureza radioquímica do IMP- 131 I em função da variação do pH final de reação

pH FINAL DE REAÇÃO	PUREZA RADIOQUÍMICA (%)
\cong 2,0	98,01 \pm 0,38
4,0	94,33 \pm 0,14
6,0	86,06 \pm 0,42

n = 3 - 6

Observou-se um decréscimo da porcentagem da pureza radioquímica com o aumento do pH final de reação. Ficou estabelecido o pH \cong 2,0 como pH final de marcação.

4.3.1.5 - Relação Massa de IMP(mg) pela Atividade de Na 131 I (MBq) (Relação Massa/Atividade)

A variação da pureza radioquímica do IMP- 131 I em função da massa de IMP (mg)/atividade de Na 131 I (MBq) (relação massa/atividade) encontra-se na tabela 7.

Analisando-se os dados da tabela 7, observou-se que, a medida que aumentou-se a relação, massa de IMP (mg) em função da atividade de Na¹³¹I (MBq), houve um aumento simultâneo da porcentagem de IMP-¹³¹I ou seja a massa de IMP presente na reação é diretamente proporcional à porcentagem de pureza radioquímica do radiofármaco. Assim sendo, verificou-se que para as relações de massa IMP/atividade de Na¹³¹I menores que 0,1 (1/10), a pureza radioquímica do IMP-¹³¹I apresentou valores inferiores.

Tabela 7 - Porcentagem da pureza radioquímica do IMP-¹³¹I em função da variação da relação massa de IMP (mg) pela atividade de Na¹³¹I (MBq)

RELAÇÃO MASSA DE IMP(mg) / ATIVIDADE DE Na¹³¹I (MBq)	PUREZA RADIOQUÍMICA (%)
1/80 (3/8880)	83,59 ± 1,21
1/40 (3/4440)	83,89 ± 0,41
1/10 (3/1110)	96,34 ± 1,24
1/2 (3/222)	97,28 ± 1,32
1/1 (3/111)	98,73 ± 0,13

n = 3 – 6

4.3.2 - ESTABILIDADE DO IMP-¹³¹I EM FUNÇÃO DA RELAÇÃO MASSA DE IMP (mg) PELA ATIVIDADE DE Na¹³¹I (MBq)

A estabilidade do IMP-¹³¹I em função da relação da massa de IMP/atividade de Na¹³¹I (relação massa/atividade), avaliada por um período de 4 dias, encontra-se na tabela 8.

Tabela 8 - Porcentagem de pureza radioquímica em função da estabilidade do IMP-¹³¹I e da variação da relação massa/atividade

RELAÇÃO MASSA DE IMP (mg)/ATIVIDADE DE Na ¹³¹ I (MBq)	PUREZA RADIOQUÍMICA (%)			
	1º DIA	2º DIA	3º DIA	4º DIA
1/10 (3/1110)	98,49 ± 0,07	92,26 ± 0,23	84,43 ± 0,47	81,33 ± 0,33
1/5 (3/555)	99,38 ± 0,08	95,48 ± 0,07	-	94,78 ± 0,07
1/1 (3/111)	97,91 ± 0,11	96,11 ± 0,31	95,41 ± 0,37	94,59 ± 0,17
3/1 (3/37)	94,91 ± 0,02	93,67 ± 0,12	92,92 ± 0,22	92,90 ± 0,09

n = 3 - 6

Verificou-se que, conforme aumentava-se a relação massa/atividade, o produto permaneceu mais estável, o que garantiu a qualidade para sua aplicabilidade em dias subseqüentes à marcação. Entretanto sabe-se que, assim como o IMP-¹³¹I, o N-isopropil-p-iodoanfetamina (IMP) não marcado, apresenta também uma afinidade pelas células cerebrais, competindo dessa forma com o radiofármaco, podendo comprometer a imagem cintilográfica cerebral ⁽¹⁸⁾.

Analisando-se os dados da tabela 8, verificou-se que no primeiro dia de marcação as relações massa/atividade de 1/1 – 1/10, apresentaram porcentagem de pureza radioquímica superiores a 97% de IMP-¹³¹I e que, nos dias subseqüentes ocorreu decréscimo dessa, com a diminuição da relação massa/atividade.

A tabela 9, apresenta os valores dos parâmetros de marcação do IMP-¹³¹I escolhidos, após o estudo de otimização.

Tabela 9 – Parâmetros de marcação avaliados para obtenção do IMP-¹³¹I

PARÂMETROS DE REAÇÃO	CONDIÇÕES ESCOLHIDAS PARA CADA PARÂMETRO
TEMPERATURA (°C)	174 – 176
TEMPO (min.)	30
MASSA DE ÁCIDO ASCÓRBICO (mg/μl)	2,0/10
pH FINAL	≅ 2,0
RELAÇÃO MASSA DE IMP (mg) / ATIVIDADE DE Na¹³¹I (MBq)	1/1 – 1/10 (3/111 – 3/1110)

Dessa maneira, estabeleceu-se um protocolo de marcação do IMP com iodo-131 que seria utilizado:

1°) Adicionar a um frasco de marcação de fundo cônico:

- 3 - 5 mg de IMP.HCl + 50 μL de água destilada purifica;
- 50 μL de solução de CuSO₄.5H₂O em ácido acético 96% (3,15 μmol Cu⁺⁺/mL);
- 2 mg/10 μL de solução aquosa de ácido ascórbico (11,36 μmol C₆H₈O₆/mL);
- 37 – 1850 MBq de solução de Na¹³¹I (50 - 100 μL).

2°) Fechar o frasco.

- 3°) Reagir à 174 - 176 °C por 30 minutos.
- 4°) Resfriar o produto por 15 minutos.
- 5°) Ressuspender com solução fisiológica [CR = 37 - 74 MBq/mL].

Durante os estudos de otimização dos parâmetros de marcação do IMP-¹³¹I, verificou-se que um fator determinante, após o término do tempo de aquecimento da reação, era o resfriamento do frasco à temperatura ambiente, antes de ressuspender o produto com solução fisiológica. Constatou-se que um período de repouso de 15 minutos, seria suficiente para o resfriamento e estabilidade do radiofármaco.

4.4 - ESTUDOS BIOLÓGICOS DO IMP MARCADO COM RADIOIODO

4.4.1 - DISTRIBUIÇÃO BIOLÓGICA DO IMP-¹³¹I EM ANIMAL DE PEQUENO PORTE

Os dados do estudo da distribuição biológica realizado em camundongos, encontram-se nas tabelas 10 e 11, expressos em porcentagem dose/órgão (%Dose) e porcentagem dose/grama de tecido (%Dose/g de tecido), em função do tempo, respectivamente. Isso nos permitiu determinar o grau de seletividade do radiofármaco pelos diferentes órgãos.

Analisando-se os dados da tabela 10, observou-se que a captação pulmonar do composto apresentou um pico máximo de $8,75 \pm 1,10\%$ da dose administrada do IMP-¹³¹I no primeiro minuto, mantendo-se praticamente inalterado entre os tempos de 15 minutos a 6 horas com captação de $5,01 \pm 0,96\%$ Dose e $4,34 \pm 0,68\%$ Dose, respectivamente.

Oguchi e col. ⁽⁹⁰⁾, em seus estudos realizados em humanos, verificaram que, quando o IMP-¹²³I era injetado venosamente, no estudo da determinação do fluxo sanguíneo cerebral regional, uma alta radioatividade achava-se concentrada no pulmão. Embora os resultados interespecies dificilmente possam ter valores homogêneos, não se pode negar a similariedade existente no comportamento da distribuição biológica, pois há uma razão na utilização de animais de laboratórios de diferentes espécies como ferramenta básica quando deseja-se investigar e aprovar um fármaco para aplicação clínica

Fazendo-se uma análise comparativa entre os dados experimentais da tabela 10 com os obtidos em macacos por Holman e col. ⁽⁴⁵⁾, verificou-se que a captação pulmonar mostrava um comportamento similar, no entanto, em menor proporção, para o tempo de 15 minutos de $5,01 \pm 0,96\%$ Dose do obtido experimentalmente, para $11,20\%$ Dose dos dados citados pelos autores.

Analisando-se a captação hepática obtida nos tempos de 1 e 24 horas, na tabela 10, observou-se que esta, apresentou uma certa analogia entre os dados experimentais de $15,13 \pm 2,96\%$ Dose e $0,35 \pm 0,11\%$ Dose e os dados de 18% Dose e $1,50\%$ Dose obtidos, respectivamente, por Holman e col. ⁽⁴⁵⁾. A alta captação hepática na primeira hora, talvez seja, reflexo da atividade circulante de IMP-¹³¹I ($25,24 \pm 3,5\%$ Dose) na forma íntegra e/ou metabolizada que, mesmo com a ação enzimática diversificada do fígado, esteja conseguindo manter as características de perfusão cerebral.

Observou-se comportamentos semelhantes entre os dados pulmonares e hepáticos obtidos em camundongos por Hoshi e col. ⁽⁴⁸⁾ e Holman e col. ⁽⁴⁵⁾, com os dados experimentais por nós obtidos.

A captação cerebral do IMP-¹³¹I demonstrou ser efetivamente boa, apresentando no primeiro minuto $3,14 \pm 0,35\%$ Dose, com um pico máximo de $4,91 \pm 0,31\%$ Dose em 2 horas. Apresentou um período de permanência longo na estrutura cerebral, onde, em 6 horas detectou-se uma captação de $3,49 \pm 0,59\%$ Dose, considerando-se um tempo razoável, em se tratando de radiofármaco cerebral.

Baldwin e col. ⁽¹²⁾, investigaram diferentes isômeros do IMP marcados com iodo-123 em camundongos e, observaram uma maior afinidade do isômero *para*, pela estrutura cerebral com $1,50\%$ Dose/g e $1,90\%$ Dose/g, para os tempos de 5 minutos e 1 hora, respectivamente. Fazendo-se uma análise comparativa com os dados da tabela 11, verificou-se que a captação cerebral experimental obtida, é significativa nos tempos mencionados por Baldwin e col. ⁽¹²⁾, ou seja, $11,05 \pm 1,44\%$ Dose/g e $12,38 \pm 1,34\%$ Dose/g, respectivamente, sendo de 70% a mais do que àquelas mencionadas pelos autores.

Averiguando-se a seqüência dos dados experimentais obtidos da captação cerebral do IMP-¹³¹I em camundongos, comprova-se que, o radiofármaco apresenta uma meia-vida cerebral relativamente longa, tornando-o apropriado para realização de estudos clínicos tardios.

Estas características já eram esperadas uma vez que as modificações introduzidas no grupo farmacofórico (figura 1) devem contribuir para o incremento da captação cerebral, em função de alterações de lipossolubilidade, carga e características estéricas do composto ^(4,16,60,71).

As modificações observadas, descritas abaixo, correlacionam-se, provavelmente, com as seguintes alterações no comportamento biológico:

a) Substituição do hidrogênio pelo iodo que provoca alteração no efeito estérico:

- ◆ Raio atômico do Hidrogênio = 0,29 e do Iodo = 1,33 Å;
- ◆ Distância Interatômica de Ligação C-H = 1,14 e C-I = 2,12 Å;
- ◆ Força de Ligação do C-H = 93 e C-I = 45 (cal/mol)

- b) Substituição do hidrogênio pelo iodo na posição *para* (anel aromático) que provoca alteração no efeito eletrônico, predominando o efeito de ressonância, tornando-o mais ativo biologicamente;
- c) Substituição de R₁ pela metila (-CH₃), que provoca alteração no coeficiente de partição da molécula, tornando-a mais lipossolúvel;
- d) Substituição de R₁ pela metila (-CH₃) que prolonga a duração da ação do composto no sítio de interação;
- e) Substituição de R₂ pelo grupamento isopropil (-C₃H₇) que aumenta a atividade do composto com β-receptores locais;
- f) Substituição de R por hidrogênio (H) que altera a solubilidade do composto, tornando-o com maior ação estimuladora central.

Outros dados contribuíram para supor que a estabilidade biológica em camundongos do IMP-¹³¹I foi eficaz, entre eles, a baixa captação do radioiodo apresentada pela glândula tireóide e pelo estômago. Estes órgãos são tidos como referência no processo de desalogenação *in vivo* dos fármacos radioiodomarcados. Obteve-se $0,020 \pm 0,004$ %Dose no estômago e $0,31 \pm 0,04$ %Dose na tireóide em 24 horas, sendo este último próximo aos níveis obtidos por Owunwanne e col. ⁽⁹⁷⁾, Baldwin e col. ⁽¹³⁾ e Holman e col. ⁽⁴⁵⁾.

Outro órgão avaliado foi o olho. A tabela 11, apresenta uma captação ocular de $10,17 \pm 1,17$ %Dose/g de tecido para o tempo de 2 horas, após a injeção do radiofármaco, porcentagem esta que não poderia ser considerada desprezível, por achar-se próxima da captação hepática, para o mesmo tempo ($12,26 \pm 1,15$ %Dose/g de tecido).

A captação ocular do radiofármaco encontrada por Dewey e col. ⁽³⁰⁾ e a obtida experimentalmente, permitiram supor, que a possibilidade do IMP possuir uma afinidade pelo órgão, seja real, ou que ocorra algum mecanismo que permita a infiltração do produto no tecido ocular lesado.

A radioatividade presente nos rins manteve-se praticamente constante até 6 horas, conforme observou-se nas tabelas 10 e 11. Fato este atribuído a eliminação dos compostos radioativos circulantes por esta via, sem contudo, ser o sítio de ação propriamente dito.

Os valores obtidos para captação renal nos tempos de 30 e 60 minutos foram de $12,98 \pm 0,99\%$ Dose/g de tecido e $11,72 \pm 1,00\%$ Dose/g de tecido, respectivamente, mantendo-se aproximadamente constante por 6 horas. Dados estes semelhantes aos obtidos por Hoshi e col. ⁽²¹⁾ e que indicaram ser esta uma provável rota de eliminação do radiofármaco e seu(s) metabólito(s).

Acredita-se que, o IMP-¹³¹I e seu(s) metabólito(s), devam passar por um mecanismo de biotransformação e serem excretados do organismo na forma de ácido p-aminobenzóico, sendo a rota principal de eliminação deste derivado a via urinária.

A biotransformação ocorre predominantemente nos microssomas hepáticos por hidroxilação do anel aromático, desaminação oxidativa e N-desalquilação, sendo a velocidade de transformação proporcional ao número de carbonos que deverá ser substituído ⁽¹¹⁵⁾.

O mecanismo de hidroxilação do anel aromático que leva à formação do p-hidroxiderivado, é considerado o principal método de biotransformação em cães e ratos. No homem este processo ocorre em uma porcentagem de apenas 3% ⁽¹¹⁵⁾, sendo esta somada à desaminação oxidativa, constituindo o processo metabólico mais importante em humanos, porém secundário para os ratos. Provavelmente, o mesmo mecanismo considerado para os ratos, pode ser atribuído aos camundongos.

O aumento da radioatividade intestinal apresentado na tabela 10, demonstra ser aparentemente esta, uma provável rota de excreção do IMP-¹³¹I e seu(s) produto(s) de degradação. Entretanto, analisando-se a seqüência dos dados nos tempos subseqüentes, notou-se uma redução da atividade de $16,94 \pm 1,67\%$ Dose aos 30 minutos para $12,02 \pm 1,51\%$ Dose e $0,88 \pm 0,14\%$ Dose, nos tempos de 6 e 16 horas, respectivamente.

Tabela 10 - Porcentagem dose/órgão, sangue e plasma do IMP-¹³¹I em camundongos em função do tempo

TEMPO	MINUTO(S)						HORA(S)					
	01	05	15	30	01	02	04	06	16	24	48	
ÓRGÃOS (%Dose)												
OLHO	0,12±0,01	0,12±0,01	0,16±0,02	0,19±0,02	0,40±0,01	0,57±0,09	0,46±0,06	0,10±0,01	0,023±0,003	0,010±0,001	0,010±0,001	
TIREÓIDE	0,11±0,01	0,13±0,02	0,13±0,02	0,15±0,02	0,29±0,02	0,46±0,06	0,48±0,05	0,72±0,08	0,31±0,03	0,31±0,04	0,25±0,02	
PULMÃO	8,75±1,10	8,15±1,53	5,01±0,96	4,71±0,88	4,37±0,98	4,75±0,18	4,69±0,35	4,34±0,68	0,38±0,07	0,11±0,004	0,04±0,01	
CORAÇÃO	1,94±0,19	1,16±0,37	0,79±0,19	0,61±0,09	0,57±0,06	0,49±0,02	0,47±0,10	0,50±0,04	0,050±0,001	0,020±0,001	0,010±0,001	
BAÇO	0,31±0,09	0,71±0,11	0,88±0,25	1,00±0,02	1,01±0,14	0,86±0,11	0,64±0,07	0,63±0,07	0,06±0,01	0,010±0,001	0,010±0,001	
FÍGADO	3,92±0,16	9,23±1,19	15,65±2,56	15,91±1,86	15,13±2,96	10,61±0,70	9,14±1,34	8,62±0,74	1,05±0,16	0,35±0,11	0,12±0,004	
ESTÔMAGO	0,75±0,13	0,94±0,10	1,25±0,30	1,27±0,19	1,32±0,20	1,09±0,30	1,07±0,24	0,95±0,09	0,060±0,005	0,020±0,004	0,005±0,001	
INTESTINO	9,11±1,02	11,76±1,50	16,28±1,95	16,94±1,67	16,00±0,70	15,32±0,59	12,64±0,57	12,02±1,51	0,88±0,14	0,24±0,04	0,040±0,004	
RÍNS	4,53±0,72	4,37±0,57	4,31±0,53	4,22±0,17	3,63±0,41	3,13±0,55	3,05±0,01	3,01±0,09	0,35±0,07	0,12±0,03	0,023±0,004	
MÚSCULO	41,80±3,45	40,73±5,11	22,35±2,04	22,85±2,48	24,66±3,84	27,93±2,42	26,50±4,06	21,02±1,75	1,28±0,20	0,42±0,04	0,09±0,01	
CÉREBRO	3,14±0,35	3,91±0,75	4,34±0,45	4,40±0,52	4,89±0,36	4,91±0,31	3,72±0,71	3,49±0,59	0,15±0,02	0,08±0,01	0,010±0,001	
SANGUE	37,87±3,13	30,33±5,65	29,24±3,10	26,37±2,54	26,31±3,20	23,55±2,86	23,00±2,55	20,50±2,01	10,40±0,57	8,02±1,53	0,95±0,21	
PLASMA	29,28±3,00	27,75±4,21	22,29±2,30	21,47±2,96	21,04±3,56	17,19±1,65	17,08±1,46	14,97±1,93	5,54±0,88	1,39±0,40	0,38±0,10	

n = 6 - 9

Tabela 11 - Porcentagem dose/grama do $IMP-^{131}I$ em camundongos em função do tempo

TEMPO	MINUTO(S)						HORA(S)					
	01	05	15	30	01	02	04	06	16	24	48	
ÓRGÃOS (%Dose)												
OLHO	2,97±0,45	2,97±0,35	2,99±0,45	2,99±0,54	5,64±1,07	10,17±1,17	8,77±0,83	3,16±0,22	073±0,10	028±0,06	0,020±0,009	
PULMÃO	33,50±3,47	32,26±6,20	31,53±2,64	23,70±3,03	23,73±4,16	23,65±3,50	26,19±3,74	20,11±0,46	1,65±0,32	0,45±0,16	0,11±0,01	
CORAÇÃO	15,42±1,53	6,90±0,71	6,87±1,60	5,13±0,43	5,47±0,50	4,92±0,45	4,64±0,55	4,62±0,39	0,30±0,06	0,15±0,02	0,020±0,001	
BAÇO	3,15±0,70	5,85±0,86	9,29±0,87	10,68±0,47	11,27±0,93	11,57±0,66	13,41±2,32	7,85±0,65	0,47±0,08	0,06±0,01	0,020±0,001	
FÍGADO	3,21±0,26	7,48±1,58	13,86±1,44	14,27±1,84	13,86±1,18	12,26±1,15	10,58±0,92	9,64±0,91	0,81±0,01	0,24±0,06	0,08±0,01	
ESTÔMAGO	2,41±0,50	3,48±0,30	3,69±0,63	3,99±0,52	3,95±0,64	4,09±0,90	4,54±0,09	4,28±0,21	0,17±0,01	0,080±0,007	0,010±0,001	
INTESTINO	3,04±0,50	4,16±0,89	5,90±1,10	6,70±0,58	6,74±1,04	6,09±0,25	5,84±0,42	5,41±0,79	0,25±0,04	0,090±0,009	0,010±0,001	
RÍNS	13,99±1,15	15,15±1,61	13,95±2,23	12,98±0,99	11,72±1,00	11,95±1,90	10,87±2,00	12,76±0,61	0,97±0,17	0,37±0,10	0,05±0,01	
MÚSCULO	1,90±0,55	1,96±0,22	1,04±0,32	0,90±0,11	1,27±0,27	1,51±0,31	1,42±0,33	1,33±0,24	0,05±0,01	0,010±0,002	0,007±0,001	
CÉREBRO	8,58±0,82	11,05±1,44	11,67±1,44	11,84±1,23	12,38±1,34	11,29±0,93	10,56±0,15	9,37±0,94	0,39±0,03	0,24±0,03	0,010±0,003	

n = 6 - 9

Observando-se a tabela 12, verifica-se uma eliminação fecal de $0,21 \pm 0,03\% \text{Dose}$ e $3,07 \pm 0,40\% \text{Dose}$, para os tempos de 6 e 17 horas, respectivamente. Fato este que levou a supor, a via urinária, como a verdadeira rota de eliminação e, uma possível existência de um processo de reabsorção, à nível intestinal.

Os resultados mostrados na tabela 12 sem dúvida, contribuem para afirmar a existência de uma reabsorção intestinal do(s) metabolito(s) e/ou produto(s) degradado(s) do IMP-¹³¹I, como encontra-se descrito por Hoshi e col. ⁽⁴⁸⁾, Baldwin e col. ⁽¹³⁾ e, Holman e col. ⁽⁴⁵⁾. Este processo provavelmente deve ser favorecido, pelo meio em que se encontra, rico em enzimas, como glucoronidase, sulfatase, etc, que o(s) tornaria(m), em um(ns) elemento(s) facilmente reabsorvível(is). Talvez, os fatores que contribuem para manter a taxa sangüínea um tanto quanto elevada, como observou-se na tabela 10 para os tempos de 6 e 24 horas, $20,50 \pm 2,01\% \text{Dose}$ e $8,02 \pm 1,53\% \text{Dose}$ respectivamente, devam ser a metabolização e a reabsorção intestinal.

Tabela 12 - Porcentagem dose de fezes excretada do IMP-¹³¹I em função do tempo

TEMPO (horas)	FEZES (%Dose)
06	$0,21 \pm 0,03$
17	$3,07 \pm 0,40$
24	$3,65 \pm 0,64$
48	$3,47 \pm 0,26$

n = 4 - 5

A %Dose/g de gordura do radiofármaco para os tempos de 16, 24 e 48 horas, determinadas, foram respectivamente: $1,79 \pm 0,27\%$; $2,14 \pm 0,01\%$ e $0,90 \pm 0,03\% \text{Dose/g}$ de tecido. Pelos dados apresentados observou-se que o produto apresenta pouca afinidade pela camada de gordura em camundongo.

Hoshi e col. ⁽⁴⁸⁾, em estudos com camundongos, empregaram a técnica de autoradiografia e visualizaram nitidamente o acúmulo da radioatividade na medula espinhal. Para complementação dos estudos realizados na distribuição biológica do IMP-¹³¹I, avaliou-se a quantidade de radioatividade contida neste órgão, coletando-se amostras, nos tempos de 1, 15, 30 minutos e, 1 e 2 horas (tabela13).

Conforme observou-se na tabela 13, notou-se uma real afinidade (%Dose) do cérebro pelo IMP-¹³¹I. Comparando-se esta com o cerebelo e bulbo, verificou-se que a captação correspondente foi cerca de 4,3 vezes menor que a radioatividade encontrada no cérebro, após 2 horas da injeção do radiofármaco. Comportamento similar pode ser verificado para a captação da medula espinhal que, no mesmo intervalo de tempo, foi cerca de 3,8 vezes menor que a cerebral.

TABELA 13 – Porcentagem dose/órgão do IMP-¹³¹I em camundongos em função do tempo

TEMPO		ÓRGÃOS (%Dose)		
		CEREBELO E BULBO	CÉREBRO	MEDULA ÓSSEA
MINUTO(S)	01	1,02 ± 0,08	3,14 ± 0,35	1,44 ± 0,13
	05	1,05 ± 0,36	3,91 ± 0,75	-
	15	1,08 ± 0,18	4,34 ± 0,45	1,56 ± 0,16
	30	1,06 ± 0,13	4,40 ± 0,52	1,69 ± 0,12
HORA(S)	01	1,24 ± 0,16	4,89 ± 0,36	1,65 ± 0,10
	02	1,14 ± 0,16	4,91 ± 0,31	1,29 ± 0,16
	04	0,79 ± 0,19	3,72 ± 0,71	-
	06	0,69 ± 0,20	3,49 ± 0,59	-

n = 6 - 9

4.4.2 – ESTUDO DE CAPTAÇÃO DE CORPO INTEIRO DO IMP-¹³¹I EM ANIMAL DE PEQUENO PORTE

Todo o sistema envolvido na distribuição biológica foi avaliado plenamente. Analisando-se sob o ponto de vista de dosimetria de radiação, ou seja, o tempo de residência do radiofármaco no organismo, o decréscimo da radioatividade observado nas últimas horas, demonstrou ser bastante satisfatório, mostrando um resíduo de $6,47 \pm 1,24\%$ Dose e $2,06 \pm 0,41\%$ Dose, em 24 horas e 48 horas, respectivamente, ao avaliar-se a $\%$ Dose de IMP-¹³¹I retido no corpo inteiro dos camundongos (tabela 14).

Tabela 14 - Porcentagem dose do IMP-¹³¹I retida no corpo inteiro em função do tempo

TEMPO		CORPO INTEIRO (%Dose)
MINUTOS	30	$99,66 \pm 0,58$
HORAS	02	$85,56 \pm 6,61$
	06	$75,16 \pm 5,86$
	24	$6,47 \pm 1,24$
	48	$2,06 \pm 0,41$

n = 4 – 5

Analisando-se os dados de decaimento do corpo inteiro (tabela 14), observou-se uma retenção de praticamente 100% aos 30 minutos, sugerindo portanto, que o IMP-¹³¹I e/ou seu(s) derivado(s), devem sofrer um processo de biotransformação um tanto quanto lento, até que resulte na formação de ácido p-iodoaminobenzóico que, em conjugação com a glicina é convertido a ácido p-iodohipúrico ⁽²²⁾, cuja velocidade de depuração, em condições normais do organismo, deveria mostrar-se bastante rápida. Entretanto, examinando-se os dados da tabela 14, subtraindo-se as porcentagens obtidas dos dados das fezes na tabela 12, para os tempos 30 minutos e, 2, 6, 24 e 48 horas, verificou-se que existe uma linearidade na excreção urinária de 3 – 4%Dose/hora. Assim sendo, isto vem colaborar para a hipótese da existência de um ou mais reservatórios (existência de múltiplos compartimentos) do IMP-¹³¹I e/ou seu(s) derivado(s) que, obedecendo a lei do equilíbrio de difusão, encontra-se em processo contínuo, liberando o produto que, após a ação metabólica, provavelmente será depurado do sangue na forma de ácido p-iodohipúrico, pela via urinária.

Comparando-se os resultados das tabelas 10 e 14 e analisando-se a radioatividade retida de IMP-¹³¹I no corpo inteiro dos animais, observou-se uma depuração relativamente lenta, pois a eliminação do(s) composto(s) metabolizado(s), apresenta uma constância num período de 24 horas, o que nos leva a supor, uma contínua liberação da radioatividade de uma possível área de armazenamento.

4.4.3 - ESTUDO *IN VITRO* PARA DETERMINAÇÃO DA PORCENTAGEM DE LIGAÇÃO DO IMP-¹³¹I ÀS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS ^(23,137) EM ANIMAL DE PEQUENO PORTE

Realizou-se o estudo de ligação às proteínas plasmáticas no período de 1 hora e obteve-se os seguintes resultados:

Tabela 15 - Porcentagem Dose de ligação às proteínas plasmáticas do IMP-¹³¹I em função do tempo

TEMPO (minutos)	LIGAÇÃO ÀS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS (%Dose)
15	12,15 ± 0,72
30	11,34 ± 0,56
60	11,20 ± 0,84

n = 4 - 5

Observando-se esta tabela, verificou-se que a proporção de IMP-¹³¹I ligado às proteínas plasmáticas (geralmente a albumina), apresentou-se reduzida, encontrando-se na faixa de 11 - 12%, quando aplicada a técnica de precipitação com ácido tricloroacético (TCA), indicando que o IMP-¹³¹I encontra-se na corrente sanguínea, na forma livre, em uma maior proporção.

4.4.4 – ESTUDO RADIOFARMACOCINÉTICO DO IMP-¹³¹I EM ANIMAL DE PEQUENO PORTE

Utilizou-se o programa BIEXP.BAS ⁽⁸²⁾, introduzindo-se os dados de %Dose total de sangue, a partir de t = 1 minuto e transformando os tempos correspondentes em horas.

Os valores calculados pelo programa BIEXP.BAS, para obtenção da equação bi-exponencial, foram:

- ◆ $A = 12874,44 \text{ cpm/min} \cdot \text{mL}$;
- ◆ $B = 17488,60 \text{ cpm/min} \cdot \text{mL}$;
- ◆ $\alpha = 0,1761978 \text{ h}^{-1}$, com $T_{1/2} = 3,9339161 \text{ h}$;
- ◆ $\beta = 0,0324838 \text{ h}^{-1}$, com $T_{1/2} = 21,3382320 \text{ h}$;
- ◆ $K_{12} = 0,043763 \text{ h}^{-1}$;
- ◆ $K_{21} = 0,115261 \text{ h}^{-1}$;
- ◆ $K_{10} = 0,049658 \text{ h}^{-1}$

Portanto, substituindo-se os valores citados acima na equação 10, obteve-se a equação 12, que corresponde a equação da curva bi-exponencial do radiofármaco:

$$C(t) = 12874,44 \cdot e^{-0,1761978 \cdot t} + 17488,60 \cdot e^{-0,0324838 \cdot t}$$

(Equação 12)

Em seguida introduziu-se no programa MSEXcel, os dados experimentais de %Dose sangue total com seus desvios padrões respectivos, e os dados BIEXP (equação 12), obtendo-se a figura 17.

Comparando-se os dados experimentais (pontos vermelhos) e os dados BIEXP (pontos azuis) da figura 17, verificou-se que a maior parte dos pontos experimentais com seus respectivos desvios padrões encontram-se ajustados a curva BIEXP.BAS.

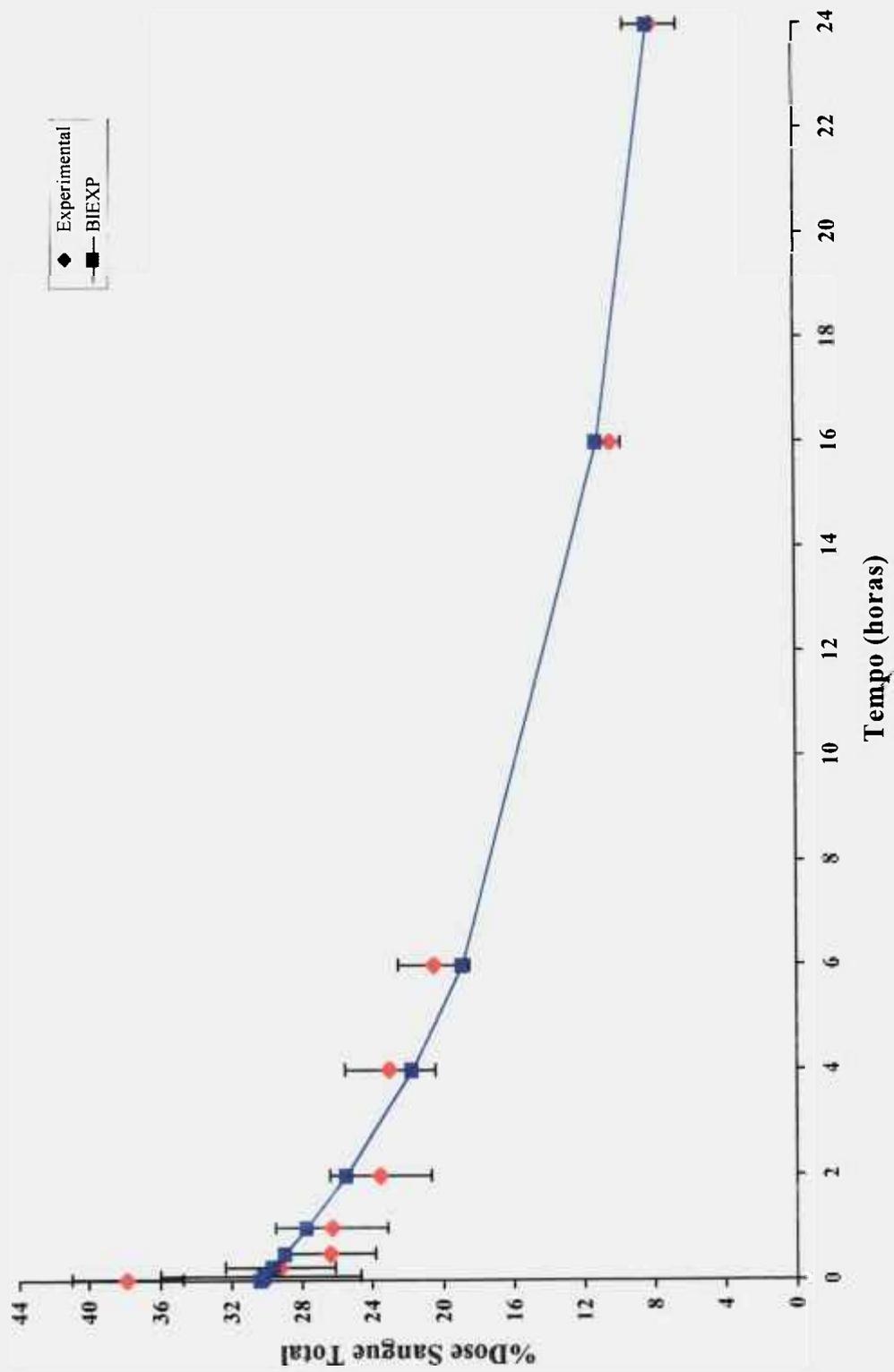


Figura 17 – Gráfico da %Dose de Sangue Total do IMP-¹³¹I em função do tempo

4.4.5 – ESTUDO DE IMAGENS CINTILOGRÁFICAS DO IMP-¹²³I REALIZADO EM ANIMAL DE MÉDIO PORTE

A pureza radioquímica do IMP-¹²³I injetado no coelho, para obtenção das imagens cintilográficas foi de $97,29 \pm 0,10\%$.

As imagens cintilográficas realizadas em coelho são apresentadas nas figuras 18 e 19.

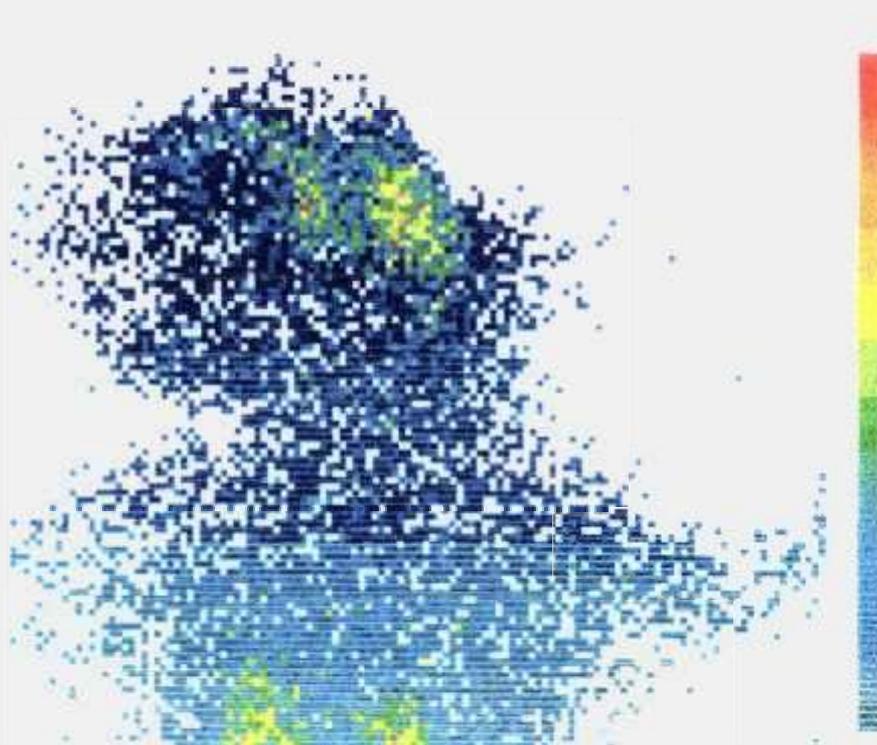


Figura 18 – Imagem Cintilográfica do IMP-¹²³I em Coelho
(Posição Lateral - 60 minutos pós-dose)

Nas imagens cintilográficas do IMP- ^{123}I realizadas em coelho, identificou-se que, tanto para a projeção lateral (figura 18) como para a frontal (figura 19), houve uma boa captação cerebral do radiofármaco, sem visualização da glândula tireóide, comprovando-se, assim, a ausência de $^{123}\text{I}^-$ (impureza radioquímica), que poderia ser proveniente, tanto da marcação do radiofármaco (*in vitro*), como também, de sua liberação no organismo do animal pós-injeção (desalogenação), comprovando-se assim, sua estabilidade *in vivo*.

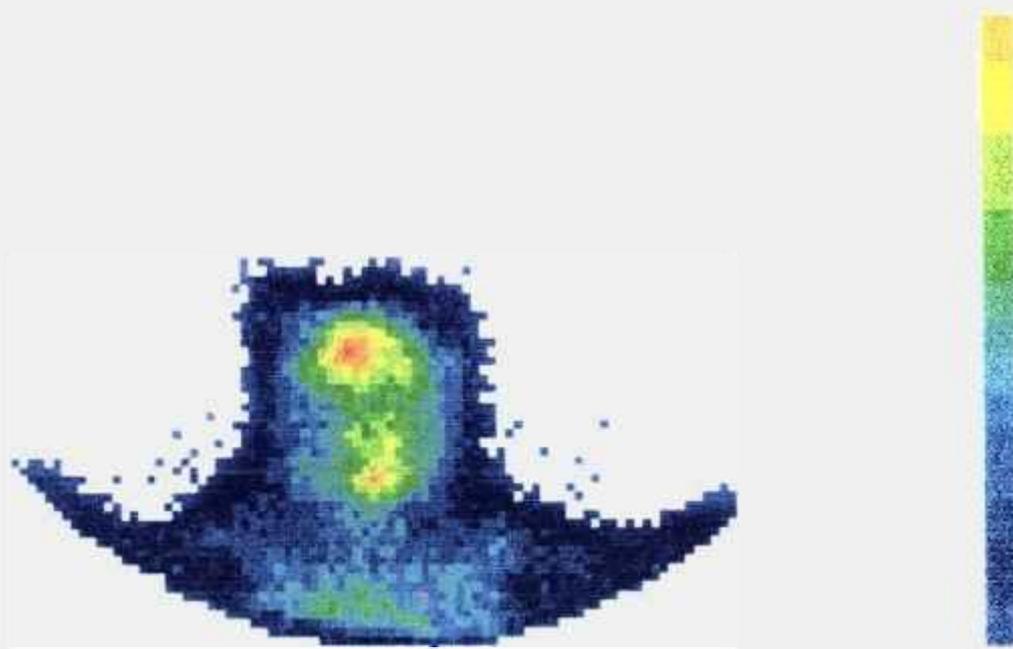


Figura 19 - Imagem Cintilográfica do IMP- ^{123}I em Coelho
(Posição Frontal - 20 minutos pós-dose)

Comparando-se as figuras 18 e 19, observou-se que na figura 19, obteve-se uma resolução cerebral melhor que na figura 18, pois para realização dessas imagens cintilográficas, o equipamento foi programado para um acúmulo total de 300.000 contagens e na figura 18 verifica-se uma maior contribuição de outros órgãos, principalmente na região pulmonar.

4.4.6 – ENSAIO DE SEGURANÇA TOXICOLÓGICA DO IMP-¹²³I EM ANIMAL DE PEQUENO PORTE

Neste ensaio os camundongos foram mantidos sob observação nos primeiros minutos e, nos tempos subseqüentes de 24, 48 e 72 horas, sem ocorrência de distúrbio comportamental ou alimentar. Suas excreções (fezes e urina) foram também observadas, não apresentando mudança na coloração e no cheiro.

À dose injetada de IMP-¹³¹I de 12,95 - 13,32 MBq/100µL (350 - 360 µCi/100µL), em quatro camundongos pesando entre 15 - 25 g, correspondeu a uma massa de 0,1 mg de IMP e 0,2118 µg de Cu⁺⁺ para o volume injetado; os animais não apresentaram nenhum distúrbio que comprometesse a qualidade do radiofármaco.

A quantidade de IMP administrada nos camundongos foi equivalente a 1050 vezes maior do que a massa administrada a um homem adulto de 70 kg.

Mesmo se toda a massa de uma marcação (3 mg de IMP) fosse administrada a um único paciente adulto, estaríamos trabalhando com uma margem de segurança de cerca de 100 vezes.

Também, no caso do Cu⁺⁺ a massa utilizada na marcação é muitas vezes menor que a encontrada endogenamente em um ser humano saudável.

*“Todos admiram e aproveitam sua beleza.
As folhas verdes de Esperança, viçosas, alimentam com seu metabolismo
de nectar etéreo das radiações solares, a planta.
Os pássaros colocam em torno das árvores, o canto alegre e festivo,
fazendo morada em seus galhos.
A terra se beneficia da sombra refrescante e lhe dá alimento.
A árvore faz nascer belas flores e belos frutos que lhe enfeitam.
A árvore é sábia.
Aceita com Coragem o inverno que tenta destruí-la.
Mantem-se viva e serena.
Não se desespera.
Não desanima e aguarda.
Tem consciência que na sua seiva corre o Espírito Eterno.
Conhece sua missão.
Com a mesma nobreza aceita a glória passageira na primavera,
pois, entende a efemeridade dos tempos.
Na efemeridade dos acontecimentos da vida,
saibamos imitar a árvore”*

Dr. Celso Charuri

5 – CONCLUSÕES

Conclui-se, portanto:

1. A técnica de marcação do IMP com radioiodo foi eficaz e, de fácil preparação e obtenção;
2. O sistema cromatográfico utilizado para avaliação da pureza radioquímica foi eficiente e confiável;
3. Ambos os radiofármacos, IMP-¹³¹I e IMP-¹²³I, foram obtidos com pureza radioquímica superiores a 97%;
4. Garantia de estabilidade dos radiofármacos *in vitro* e *in vivo*;
5. Os radiofármacos apresentaram segurança toxicológica;
6. Os produtos marcados apresentaram uma afinidade cerebral, tanto para estudos recentes como tardios.

*“Quem souber colocar a Inteligência ao lado do Coração,
alcançará na Terra as maiores alturas”*

Prof. José Henrique de Souza (J.H.S.)

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACTON, P.D.; MU, M.; PLÖSSL, K.; HOU, C. SICILIANO, M.; ZHUANG, Z.P., OYA, S.; CHOI, S.R. and KUNG, H.F.. Single-Photon Emission Tomography Imaging of Serotonin Transports in the Nonhuman Primate Brain with [¹²³I]ODAM. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 26, n. 10, p. 1359-1362, Oct 1999.
2. ACTON, P.D.; MOZLEY, P.D. and KUNG, H.F.. Logistic Discriminant Parametric Mapping: a Novel Method for the Pixel-Based Differential Diagnosis of Parkinson's Disease. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 26, n. 11, p. 1413-1423, Nov 1999.
3. AHN, J.Y.; LEE, J.S.; CHOI, D.G.; HWANG, J.M.; YOO, Y.S.; CHUNG, J.K. and LEE, M.C.. Characteristics of Cerebral Glucose Metabolism of Amblyopia Assessed by Statistical Parametric Mapping (SPM). *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 26, n. 9, PS-332, p. 1135, Sep 1999.
4. ALMEIDA, M.I.; BASTOS, M.P. e AMARAL, L.. Separação de Efeitos Polar, Estérico e de Ressonância pelo uso de Relações Lineares de Energia Livre. *Anais da Associação Brasileira de Química*, v. 32, p. 17-24, 1981.
5. ALTMAN, P. & DITTMER, D.. Blood and Other Body Fluids. *Biological Hand Books*. Federation of American Society for Experimental Biology, Washington, D.C., p. 1-19 apud ARAUJO, E.B. de.. *Conjuntos de Reativos Liofilizados de Compostos Diaminoditiólicos para Marcação com Tecnécio-99m. Estudo Farmacocinético e Elaboração de Modelos Compartimentalizados dos Respetivos Complexos*. São Paulo: 1995. Tese (Doutoramento) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
6. ALTROCCHI, P.H.; BRIN, M.; FERGUSON, J.H.; GOLDSTEIN, M.L.; HANLEY, D.F.; LANGE, D.J.; NUWER, M.R.; VAN DER GORELICK, P.B. and NOORT, S.. Assessment of Brain SPECT, *Neurology*, v. 46, p. 278-285, 1996.

7. ANGELBERGER, P.; WAGNER-LÖFFLER, M.; HRUBY, E. and HOFER, O..
Radiochemical and Analytical Aspects in Optimized Preparation of I-123-n-
isopropyl-p-iodoamphetamine (I-123-pIMP). *II-P-4, A-2444*, Austrian Research
Center Seibersdorf, Austria, p. 122-124, 1983.
8. ARAI, H.; HANYU, H.; KOBAYASHI, Y.; UNO, M.; HATANO, N.; SHIN, K.;
KATSUNUMA, H.; SUZUKI, T. and MURAYAMA, H.. Quantitative cerebral
blood flow assessment in senile dementia of Alzheimer's type and multi-infarct
dementia using sup 1 sup 2 sup 3 I-IMP SPECT. *J.Nippon-Gazo-Igaku-Zasshi*, v. 9,
n. 2, p. 97-106, Jun 1990.
9. ARAKI, Y.; IMAI, SHU; UNO, T.; IMAO, Y.; ANDO, T.; SAKAI, N. and YAMADA,
H.. A Non-Invasive Quantitative Measurement of Cerebral Blood Flow using N-
isopropyl-[sup1 sup 2 sup 3 I]p-iodoamphetamine And Single Photon Emission CT.
J.Kaku-Igaku, v. 28, n. 9, p. 1013-1019, Sep 1991.
10. ARAUJO, E.B. de.. *Conjuntos de Reativos Liofilizados de Compostos
Diaminoditiólicas para Marcação com Tecnécio-99m. Estudo Farmacocinético e
Elaboração de Modelos Compartimentalizados dos Respetivos Complexos*. São
Paulo: 1995. Tese (Doutoramento) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
11. ASENBAUM, S.; DIEMLING, M.; HOFFMANN, M.; BECHERER, A.;
BAUMGARTNER, C.; OLBRICH, A.; GÖRZER, H. and DUDCZAK, R..
[^{99m}Tc]-HMPAO SPECT and [¹⁸F]-FDG] PET in the Preoperative Evaluation of
temporal Lobe Epilepsy. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 26, n. 9, PS-310, p. 1130, Sep 1999.
12. BALDWIN, R.M.; LIN, T.H. and WU, J.L.. Synthesis and Brain Uptake of Isomeric
¹²³I-iodoamphetamine Derivates. *J.Nucl.Med.*, v 23, p. 35-36, 1982.
13. BALDWIN, R.M. and WU, J.L.. *In Vivo* Chemistry of Iofetamine HCl Iodine-123
(IMP). *J.Nucl.Med.*, v. 29, p. 122-124, 1988.

14. BALLINGER, J.R.; REID, R.H. and GULENCHYN, K.Y.. Technetium-99m HM-PAO Stereoisomers: Differences in Interaction with Glutathione. *J.Nucl.Med.*, v. 29, p. 1998-2000, 1988.
15. BARRIO, J.R.; MACDONALD, N.S.; ROBINSON, Jr., G.D.; NAGAFI, A.; COOK, J.S. and KUHI, D.E.. Remote, Semiautomated. Production of F-18-Labeled 2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose. *J.Nucl.Med.* v. 22, p. 372-375, 1981.
16. BASTOS, M.P.. Relações Lineares de Energia Livre e Atividade Farmacológica. Parte I – Equação de Hammett. *Química Nova*, p. 141-150, 1984.
17. BEER, H.-F.; BLAVENSTEIN, P.A.; HASLER, P.H.; DE LALOYE, B.; RICCABONA, G.; BANGERLS, I.; HUNKELER, W.; BONETTI, E.P.; PIERI, L.; RICHARDS, J.G. and SCHUBIGER, P.A.. *In Vitro* and *In Vivo* evaluation of Iodine-123-Ro 16-0154: A New Imaging Agent for SPECT Investigations of Benzodiazepine Receptors. *J.Nucl.Med.*, v. 31, p. 1007-1014, 1990.
18. BENET, L.Z. and SHEINER, L.B.. Farmacocinética: A Dinâmica da Absorção, da Distribuição e da Eliminação das Drogas, p. 1-31. WEINER, N.. Noradrenalina, Adrenalina e Aminas Simpatomiméticas, p. 96-140. BLOOM, F.E.. Transmissão Neuro-Humoral e o Sistema Nervoso Central, p. 157-171. In: GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S.; RALL, T.W. e MURAD F.. *Goodman & Gilman's - As Bases Farmacológicas da Terapêutica*, Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 71ª edição, 1987.
19. BERGSTRÖM, K.A.; YU, M.; KUIKKA, J.T.; AKERMAN, K.K.; HILTUNEN, J.; LEHTONEN, J.; HALLDIN, C. and TIHONEN, J.. Metabolism of [¹²³I]epidepride May Affect Brain Dopamine D₂ Receptor Imaging with Single-Photon Emission Tomography. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 27, n. 2, p. 206-208, Feb 2000.
20. BOURGUIGNON, M.H.; PAUWELS, E.K.J.; LOUC'H, C. and MAZIERE, B.. Iodine-123 Labelled Radiopharmaceuticals and Single - Photon Emission Tomography: a Natural Liaison. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 24, p. 331-334, 1997.

- 21.**CARLSEN, L. and ANDRESEN, K.. ¹³¹I-Labelled N-isopropyl-p-Iodoamphetamine.
Eur.J.Nucl.Med., v. 7, p. 280-281, 1982.
- 22.**CHALY, T.; MOTTACCHIERI, R.; VELEZ, J.W.; DAHL, J.R. and MARGOULEFF, D.. A Large Scale Manual Production of [¹⁸F]-FDG using a Synthetic Unit Made of Sterile Disposable Components and Operated by a Master Slave Manipulator.
Appl.Radiat.Isot., v. 41, p. 29-34, 1990.
- 23.**CHERVU, L.R.; SUNDORO, B.M. and BLAUFOX, M.D.. Technetium-99m Labelled p-amino Hippuric Acid Analog: a New Renal Agent: Concise Communication.
J.Nucl.Med., v. 25, p. 1111-1115, 1984 apud ARAUJO, E.B. de.. *Conjuntos de Reativos Liofilizados de Compostos Diaminoditiólicos para Marcação com Tecnécio-99m. Estudo Farmacocinético e Elaboração de Modelos Compartmentalizados dos Respetivos Complexos.* São Paulo: 1995. Tese (Doutoramento) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
- 24.**COHEN, M.B.; GRAHAM, L.S.; LAKE, R.; METTER, E.J.; FITTEN, J.; KULKARNI, M.K.; LEVRIN, R.; YAMADA, L.; CHUNG, C.C.; WOODRUFF, N. and KLING, A.S.. Diagnosis of Alzheimer's Disease and Multiple Infart Dementia by Tomographic Imaging of Iodine-123-IMP. *J.Nucl.Med.*, v. 27, p. 769-774, 1986.
- 25.**COLTHUP, N.B.; DALY, L.H. and WIBERLEY, S.E.. *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy.* New York: [s.n.], 2^a. ed., 1975.
- 26.**COOK, G.J.R.; MAISEY, M.N. and FOGELMAN, I.. Normal Variants, Artefats and Interpretative Pifalls in PET Imaging with 18-fluoro-2-deoxyglucose and Carbon-11 Methionine. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 26, n. 10, p. 1363-1378, Oct 1999.
- 27.**DE BRUINE, J.F.; VANROYEN, E.A.; VYTH, A.; DE JONG, Y.M.B. and VAN DER SCHOOT, J.B.. Thallium-201 diethyldithiocarbamate: an alternative to iodine-123 N-isopropyl-p-iodoamphetamine. *J.Nucl.Med.*, v. 26, p. 925-930, 1985.

- 28.** DE VOS, F.; DUMONT, F.; SANTENS, P.; SLEGGERS, G.; DE WOLF, I.; DIERCKX, R.A. and DE REUCK, J.. Pharmacological Evaluation of 1-benzyl-4[(5,[11C]6-dimethoxy-1-oxoindan-2-yl)methyl]piperidine as Potencial Tracer for Studyng Acetylcholinesterase by PET. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 26, n. 9, OS-79, p. 980, Sep 1999.
- 29.** DEMONCEAU, G.; LEVEILLE, J.; DE ROO, M.; WALOVITEH, R.C.; WILLIANS, S.; TAILLEFER, A.; DEVESNARD, J.M.; CANTINEAU, R. and RIGO, P.. Comparison of Tc-99m-ECD and Tc-99m-HMPAO: First Human Results. *J.Nucl.Med.*, v. 29, p. 747, 1988.
- 30.** DEWEY, S.H. and LEONARD, J.C.. Ocular Melanoma: Detection Using Iodine-123-iodoamphetamine and SPECT Imaging. *J.Nucl.Med.*, v. 31, p. 375-377, 1990.
- 31.** DORMEHL, I.C.; OLIVER, D.W.; LANGEN, K.L.; HUGO, N. and CROFT, S.A.. Technetium-99m-HMPAO, Technetium-99m-ECD and Iodine-123-IMP Cerebral Blood Flow Measurements with Pharmacological Interventions in Primates. *J.Nucl.Med.*, v. 38, n. 12, p. 1897-1901, Dec 1997.
- 32.** EL-MOHTY, A.A.; EL-KOLALY, M.T.; RAIEH, M.; COENEN, H.H. and STOCKLIN, G.. Radiopharmaceutical Preparation of L-6-[¹²³I]-iodo-m-tyrosine a Potencial SPECT Brain Imaging Agent. *J.Radion.Chem.*, n. 217, p. 215-228, 1995.
- 33.** FIGOLS, M.; GONÇALVES, R.S.V.; MURAMOTO, E.; SATO, S.; MARTINEZ, D.Y.F.; COLTURATO, M.T.; GONÇALVES, C.P. and KNUST, J.. Synthesis of N-Isopropyl-p-¹²³I-amphetamine and Biodistribution in Rats. *J.Radioanal.Nucl.Chem.Letters*, v. 136, p. 331-339, 1989.
- 34.** FOWLER, J.S.; MAC GREGOR, R.R.; WOLF, A.P.; FARRELL, A.A.; KARLSTOM, K.I. and RUTH, T.J.. A Shielded Synthesis System for Production of 2-Deoxy-2-[¹⁸F]Fluoro-D-Glucose. *J.Nucl.Med.*, v. 22, p. 376-380, 1981.
- 35.** FUKAHORI, T.; TAHARA, T.; MIHARA, F.; KATO, A.; MASUMOTO, H.; KUDO, S.; TSUJI, T. and TABUCHI, K.. Diagnostic Value of High N-isopropyl-p-[sup 1

- sup 2 sup 3 I] Iodoamphetamine (IMP) Uptake in Brain Tumors. *J.Nippon-Igatu-Hoshasen-Gakkai-Zasshi*, v. 56, n. 1, p. 53-59, Jan 1996.
- 36.** GODOY, N.; REVECO, P.; MENA, P. and GIL, M.C.. Síntesis de marcación y biodistribución de N-isopropil-¹³¹I-p-ioanfetamina (¹³¹IAMP). *Nucleotécnica*, ano 6, v. 10, p. 15-21, 1986.
- 37.** HALLDIN, C.; PIKE, V.; ANDRÉE, B.; SWAHN, C.G.; SANDELL, J. and FARDE, L.. Dway is a Selective PET Radioligand for Human Brain 5-HT_{1A} Receptors *In Vivo*. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 26, n. 9, OS-120, p. 990, Sep 1999.
- 38.** HAMACKER, K.; COENEN, H.H. and STÖCKLIN, G.. Efficient Sterospecific Synthesis of No-Carrier-added 2-[¹⁸F]-Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose using Aminopolyether Supported Nucleophilic Substitution. *J.Nucl.Med.* v. 27, p. 235-238, 1986.
- 39.** HANYU, H.; ARAI, H.; HATANO, N.; ABE, S. and KATSUNUMA, H.. Functional Relationship Between the Cerebrum and Cerebellum in Normal Subjects. *J.Kaku-Igaku*, v. 28, n. 3, p. 221-227, Mar 1991.
- 40.** HAYASHIDA, K.; NISHIMURA, T.; IMAKITA, S.; UEHARA, T.; NAKAMURA, M.; TSUCHIYA, T. and HASEGAWA, Y.. Change of Accumulation and Filling Pattern in Evaluation of Cerebral Infarction with I-123-IMP Brain SPECT. *J.Neuroradiology*, v. 33, n. 1, p. 9-14, Feb 1991.
- 41.** HELMAN, B.L.. SPECT of the Brain and Heart - Future Directions. *J.Nucl.Med.*, v. 29, p. 567-570, 1988.
- 42.** HIRANO, H.; TOMURA, N.; KOBAYASHI, M.; OHYAMA, Y. and WATARAI, J.. The Effect of Selective Intraarterial Infusion of the Anticancer Agents on Cerebral Hemodynamics: Concerned with the Change of CBF in the No-Tumoral Tissue. Quantitative Evaluation using sup 1 sup 2 sup 3-IMP-SPECT. *J.Akita-Igaku*, v. 23, n. 1, p. 11-30, Mar 1996.

43. HOLM, S.; ANDERSEN, A.R.; VORSTRUP, S.; LASSEN, N.A.; PAULSON, O.B. and HOLMES, R.A.. Dynamic SPECT of the Brain using a Lipophilic Technetium-99m Complex, PNAO. *J.Nucl.Med.*, v. 26, p. 1129-1134, 1985.
44. HOLMAN, B.L.; HILL, T.C.; LEE, R.G.L.; ZIMMERMAN, R.E.; MOORE, S.C. and ROYAL, H.D.. Brain Imaging with Radiolabelled Amines. *Nucl.Med.Anal.*, New York: Raven Press, p. 131-164, 1983.
45. HOLMAN, B.L.; ZIMMERMAN, R.E.; SCHAPIRO, J.R.; KAPLAN, M.L.; JONES, A.G. and HILL, T. C.. Biodistribution and Dosimetry of N-isopropyl-p-[¹²³I]-iodoamphetamine in the Primate. *J.Nucl.Med.*, v. 24, p. 922-931, 1983.
46. HOLMAN, B.L.; LEE, R.G.L.; HILL, T.C.; LOVETT, R.D. and JAMES, J.L.. A comparison of Two Cerebral Perfusion Tracers; N-isopropyl-I-123-p-iodoamphetamine and I-123-HIPDM in the Human. *J.Nuc.Med.*, v. 25, p. 25-30, 1984.
47. HOLMES, R.A.. A Reawakening of Interest in Radionuclide Brain Imaging. *J.Nucl.Med.*, v. 27, p. 299-301, 1986.
48. HOSHI, H.; JINNOUCHI, S., WATANABE, K.; VEDA, T.; KINOSHITA, K.; YAMAGUCHI, T. and TAKARA, Y.. Biodistribution of N-isopropyl-p-Iodoamphetamine in mice. *J.Nucl.Med.*, v. 15, n. 2, p. 127-131, 1988.
49. HOSOYA, M. and USHIKU, H.. Serial SPECT in Children with Partial Epilepsy. *J.Nippon-Shonika-Gakkai-Zasshi*, v. 99, n. 10, p. 1810-1815, Oct 1995.
50. IMAO, Y.. Studies on Cerebral Hemodynamics by Single Photon Emission Computerized Tomography, 1. Measurements of Cerebral Blood Flow in Normal Subjects by sup 1 sup 3 sup 3 Xe Inhalation and Single Photon Emission Computerized Tomography. *J.Gifu-Daigaku-Igakubu-Kiyo*. v. 39, n. 3, p. 370-382, May 1991.

- 51.** IZAWA, M.; TAKESHITA, M.; SAKAGUCHI, J.; SATOH, K.; ONDA, H.; YAMANE, F.; KAGAWA, M. and KUSUKABE, K.. Image of Cerebral Blood Flow using SPECT in Epileptic Patient. *J.Tokyo-Joshi-Ika-Daigaku-Zasshi*, v. 60, n. 3, p. 852-857, Sep 1990.
- 52.** JACQUEMIN, R.. Study on the Decay of Iodine-123. *Appl.Radiat.Isot.* (*Int.J.Radiat.Appl.Instrum. Part A*), v. 38, n. 12, p. 1087-1089, 1987.
- 53.** JONES, A.G.; ABRAMS, M.J. and DAVISON, A.. Biological studies of a new class of technetium (I) cations. *Int.J.Nucl.Med.Biol.*, v. 11, p. 225-235, 1984 apud ARAUJO, E.B. de.. *Conjuntos de Reativos Liofilizados de Compostos Diaminoditiólicos para Marcação com Tecnécio-99m. Estudo Farmacocinético e Elaboração de Modelos Compartmentalizados dos Respetivos Complexos*. São Paulo: 1995. Tese (Doutoramento) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
- 54.** KANAYA, T. and YONEKAWA, M.. Regional Cerebral Blood Flow in Depression. *Japanese J.PsychiatryNeurology*, v. 44, p. 571-576, Sep 1990.
- 55.** KIMURA, J.. ¹ ² ³ I-IMP-SPECT in Vascular Dementia. *J.CT-Kenkyu*, v. 12, n. 6, p. 657-666, Dec 1990.
- 56.** KITAMURA, Y.. Regional Cerebral Blood Flow in Parkinson's Disease by ¹ ² ³ I-IMP SPECT. *J.Okayama-Igakkai-Zasshi*. v. 106, n. 5-6, p.443-450, Jun 1994.
- 57.** KOBAYASHI, A.; KISHI, K.; SEJIMA, H. HANEDA, N.; UCHIDA, A.; SUGIMURA, K. ITO, M. and SHIRAISHI, H.. A Quantitative Study of Regional Cerebral Blood Flow in Childhood using ¹ ² ³ I-IMP-SPECT. With Emphasis on Age-Related Changes. *J.No-To-Hattatsu*, v. 28, n. 6, p. 501-507, Nov 1996.

- 58.**KOROKOLVAS, A. e BUSCKHALTER, J.H.. Estimulantes do Sistema Nervoso Central, *Química Farmacêutica*, Rio de Janeiro: Editora Guanabara Dois S.A., p. 267-279, 1982.
- 59.**KOSHI, Y.; KITAMURA, S.; OHYAMA, M.; KOMIYAMA, T.; KOMABA, Y.; SAKAYORI, O.; MISHINA, M.; ISHIWATA, A.; TERASHI, A. and KATAYAMA, Y.. Benzodiazepine Receptor Imaging with Iomazenil SPECT in Aphasic Patients with Cerebral Infarction. *J.Ann.Nucl.Med.*, v. 13, n. 4, p. 223-229, Aug 1999.
- 60.**KUBNYI, H.. QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches. *VCH*, Weinheim: [s.n.], 1993.
- 61.**KUHL, D.E.; BARRIO, J.R.; HUANG, S.C.; SELIN, C.; ACKERMANN, R.F.; LEAR, J.L.; WU, J.L.; LIN, T.H. and PHELPS, M.E.. Quantifying Local Cerebral Blood Flow by N-isopropyl-p^[123I] Iodoamphetamine (IMP) Tomography. *J.Nucl.Med.*, v. 23, p. 196-203, 1982.
- 62.**KUIKKA, J.T.; HILTUNEN, J.; FOGED, C.; BERGSTRÖM, K.A.; HALLDIN, C.; AKERMAN, K.; TIHONEN, J. and FARDE, L.. Initial Human Studies with Single-Photon Emission Tomography using Iodine-123 Labelled 3-(5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-7-iodo-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-4H-imidazo[1,5-a][1,4]-benzodiazepine (NNC 13-8241). *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 23, n. 7, p. 798-803, Jul 1996.
- 63.**KUMAKURA, Y.; MOMOSE, T.; OKU, S.; OHTAKE, T.; NISHIKAWA, Y. and OHTOMO, K.. Stepwise Analysis of Cerebral Blood Flow SPECT Imaging on Standard Brain Atlas in Patients with Dementia of Alzheimer's Type. *J.Kaku-Igaku*, v. 35, n. 9, p. 843-848, Nov 1998.
- 64.**KUMAKURA, Y.; MOMOSE, T.; OKU, S.; OHTAKE, T.; NISHIKAWA, J. and OHTOMO, K.. Decrease Posterior Singulate Perfusion Demonstrated by ¹²³I-IMP

- SPECT Images in Alzheimer's Disease. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 26, n. 9, PS-286, p. 1124, Sep 1999.
65. KUNG, H.F. and TRAMPOSCH, K.M.. A new Brain Perfusion Agent: I-123-HIPDM-N,N,N'-trimethyl-N-[2-hydroxy-3-methyl-5-iodo-benzyl]-1,3-propanediamine. *J.Nucl.Med.*, v. 24, p. 66-72, 1983.
66. KUWERT, T.; MORGENROTH, C.; WOESLER, B.; MATHEJA, P.; PALKOVIC, S.; VPLLET, B.; SAMUEL, S.; MAASJOSTHUSMANN, U.; HARTMUT, L.; GILDEHAUS, F.J.; WASSMANN, H. and SCHOBER, O.. Uptake of Iodine-123- α -methyl tyrosine by Gliomas and Non-Neoplastic Brain Lesions. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 23, n. 10, p. 1345-1353, Oct 1996.
67. LESLIE, W.D.; ABRANUS, D.N.; GREENBEY, C.R. and HOBSON, D.. Comparasion of Iodine-123-Epidepride and Iodine-123-IBZM for Dopamine D2 Receptor Imaging. *J.Nucl.Med.*, v. 37, p. 1589-1591, 1996.
68. LEVER, J.R.. Radioiodinated Compounds. In: WAGNER, H.N.Jr.; SZABO, Z.M.D. and BUCHANAN, J.W.B.S.. *Principles of Nuclear Medicine*, Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company, Second Edition., p. 199-213, 1995.
69. LINDLEY, J.. Cooper Assisted Nucleophilic Substitution of Aryl Halogen. *Tetrahedron*, v. 40, p. 1433-1456, 1989.
70. LOBERG, M.D.. Radiotracers for Cerebral Functional Imaging - A New Class. *J.Nucl.Med.*, v. 21, p. 183-185, 1983.
71. MARTIN, Y.C.; KUTTER, E. and AUSTEL, V.. Modern Drug Research. Paths in Better and Safer Drugs. *Medical Research Series*, New York: Marcel Dekker, v. 12, 1989.

72. MATSUDA, M.; LEE, H.; KURIBAYASHI, K. and HANDA, J.. Compative Study of Regional Cerebral Blood Flow Values Measured by IMP SPECT, sup 1 sup 3 sup 3 Xe SPECT and Xe CT. *J.CI-Kenkyu*, v. 18, n. 1, p. 55-61, Mar 1996.
73. MATSUMURA, K.; NAKASHIMA, H.; TAKEDA, K.; NAKAGAWA, T.; WATANABE, Y.; AOKI, S.; MAEDA, H. and HIRANO, T.. Evaluation of Regional Cerebral Blood Flow in Hippocampus by sup 9 sup 9 sup m Tc-ECD SPECT. Comparison with sup 1 sup 2 sup 3 I-IMP SPECT. *J.Kaku-Igaku*, v. 33, n. 9, p. 1021-1026, Sep 1996.
74. MCGRAW, H.. The Vitamins: Ascorbic Acid (Vitamin C). In: GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S.; RALL, T.W. e MURAD F.. *Goodman & Gilman's - The Pharmacological Basics of Therapeutics*, [S.l.: s.n.], 9nd ed., p. 1568-1572, 1997.
75. MIJNHOUT, G.S.; HOOFT, L.; VAN TULDER, M.W.; DEVILLÉ, W.L.J.M. TEULE, G.J.J. and HOEKSTRA, O.S.. How to Perform a Comprehensive Search for FDG-PET Literature. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 27, n. 1, p. 91-97, Jan 2000.
76. MOERLEIN, S.M.; HWANG, D.R. and WELCH, M.J.. No-Carrier-Added Radiobromination via Cupous Chloride: Assisted Nucleophilic Aromatic Bromodeiodination. *Appl.Radiat.Isot.*, v. 39, n. 5, p. 369-372, 1988.
77. MOERLING, S.M.; BRODACK, J.W.; SIEGEL, B.A. and WELCH, M.J.. Elimination of Contaminant Kryptofix 2.2.2 in the Routine Production of 2-[¹⁸F]-Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose. *Appl.Radiat.Isot.*, v. 40, p. 741-743, 1989.
78. MORETTI, J.L.; RAYNAUD, C.; ASKIENAZY, S.; SERGENT, A.; BARON, J.C.; SANSOM, Y.; SANABRIA, E.; LASSEN, N. and BOURDOISEAU, M.. Clinical Applications of Brain SPECT with N-isopropyl-¹²³I-iodoamphetamine. *IAEA-CN*, v. 45, n. 6, p. 489-503, 1985.
79. MORIWAKI, H.; MATSUMOTO, M. HASHIKAWA, K.; OKU, N.; ISHIDA, M.; SEIKE, Y.; FUKUCHI, K.; HORI, M. and NISHIMURA, T.. Iodine-123-Iomazenil

and Iodine-123-iodoamphetamine SPECT in major Cerebral Artery Occlusive Disease. *J.Nucl.Med.*, v. 39, n. 8, p. 1348-1353, Aug 1998.

- 80.**MOTOOKA, H.. Ictal and Interictal SPECT Imaging of 8 Patients with Symptomatic Partial Epilepsy. Comparison with Scalp EEG, CT and MRI. *J.Kurume-Igakkai-Zasshi*, v. 56, n. 1, p. 78-95, Jan 1993.
- 81.**MURASE, K.; INOUE, T.; FUJIOKA, H.; ISHIMARU, Y.; AKAMUNE, A.; YAMAMOTO, Y.; MOCHIZUKI, T. and IKEZOE, J.. An Alternative Approach to Estimation of the Cerebral Perfusion Index for Measurement of Cerebral Blood Flow using Technetium-99m Compounds. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 26, n. 10, p. 1333-1339, 1999.
- 82.**MURPHY, C.A. de.. *Manual de Radiofarmacocinética*. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, México (D.F.): [s.n.], Primera Edición, 1992.
- 83.**NAGAMACHI, S.; ONO, S. and NISHIKAWA, T.. Regional Cerebral Blood Flow in Diabetic Patients. *J. Kaku-Igatu*, v. 30, n. 2, p. 145-150, Feb 1993.
- 84.**NAKAMURA, K.; TUKATANI, Y.; KUBO, A.; HASHIMOTO, S.; TERAYAMA, Y.; AMANO, T. and GOTO, F.. The Behavior of ^{99m}Tc -Hexamethylpropyleneamineoxime (^{99m}Tc -HMPAO) in Blood and Brain. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 15, p. 100-107, 1989.
- 85.**NAKAZATO, M.. Analysis of Multiple Small Infarctions of Central Nervous System by Single Photon Emission CT. *J.Sei-Marianna-Ika-Daigaku-Zasshi*, v. 19, n. 4, p. 440-451, Aug 1991.
- 86.**NALLABHAJOSULA, S.; ZIMMERMAN, R.E.; PICARD, M. et al.. Technetium-99m ECD: A New Brain Imaging Agent: *In Vivo* Kinetics and Biodistribution Studies in Normal Human Subjects. *J.Nucl.Med.*, v. 30, p. 599-604, 1989.

- 87.** NAMBA, H.; YANAGISAWA, M.; TOGAWA, T.; KINOSHITA, F. SUEUOSHI, K. and YUI, N.. Quantitative Measurement of Cerebral Blood Flow by the Microsp Here Model with Super-Early sup 1 sup 2 sup 3 I-IMP Brain SPECT. *J.Kaku-Igaku*, V. 34, n. 11, p. 1027-1031, Nov 1997.
- 88.** NEIRINCKX, R.D.; CANNING, L.R.; PIPER, I.M.; NOWETNIK, D.P.; PICKETT, R.D.; HOLMES, R.A.; VOLKERT, W.A.; FORSTER, A.M.; WEISNER, P.S.; MARRIOT, J.A. and CHAPLIN, S.B.. Technetium-99m d,l-HM-PAO: A new Radiopharmaceutical for SPECT Imaging of Regional Cerebral Blood Perfusion. *J.Nucl.Med.*, v. 28, p. 191-202, 1987.
- 89.** NOBUHARA, K.; HALLDIN, C.; KARLSSON, P.; GUILLOTEAU, D.; PAULI, S.; EMOND, P.; SWHN, C.G.; HILTUNEN, J.; LARSSO, S.; SCHNELL, P.O.; HALL, H.; SEDVALL, G. and FARDE, L.. Evaluation of Binding Characteristics of the Dopamine Transporter Radioligand PE2I in Both PET and SPECT using the Same Monkey. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 26, n. 9, OS-83, p. 981, Sep 1999.
- 90.** OGUCHI, K.; KASUGA, T.; SONE, S.; NAKANISHI, F.; ITO, A. and TANIZAKI, Y.. Noninvasive Quantitative Measurement of Cerebral Blood Flow with sup 1 sup 2 sup 3 I-IMP. Lung Monitoring Method. *J.Nippon-Igaku-Hoshasen-Gakkai-Zasshi*, v. 53, p. 696-703, Jun 1993.
- 91.** OHNISHI, T.; HOSHI, H.; NAGAMACHI, S.; JINNOUCHI, S.; FUTAMI, S. WATANABE, K. and MITSUYAMA, Y.. Regional Cerebral Blood Flow Study with ¹²³I-IMP in Patients with Degenerative Dementia. *AmericanJ.Neuroradiology*, v. 12, n. 3, p. 513-520, May 1991.
- 92.** OHTAKI, J.. Regional Cerebral Blood Flow (rCBF) Changes in Major Depression. rCBF in Depressive and Remitted States Measured by Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) using N-isopropyl-p-[sup 1 sup 2 sup 3 I]-iodoamphetamine (IMP). *J.Kyorin-Igakkai-Zasshi*, v. 23, n. 4, p. 589-601, Dec 1992.

93. ONISHI, Y.; YONEKURA, Y.; TANAKA, F.; NISHIZAWA, S.; OKAZAWA, H.; ISHIZU, K.; FUJITA, T.; KONISHI, J. and MUKAI, T.. Delayed Image of Iodine-123 Iomazenil as a Relative Map of Benzodiazepine Receptor Binding: the Optimal Scan Time. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 23, n. 11, p. 1491-1497, Nov 1996.
94. ONO, S.; YANAGIMOTO, S. and MIMURA, H.. Usefulness of ^{99m}Tc -ECD SPECT in Diseases of Central Nerve System. Special Reference to Comparison to ^{123}I -IMP and ^{99m}Tc -HM-PAO SPECT. *J.Kaku-Igaku*, v. 29, n. 12, p. 1429-1440, Dec 1992.
95. ORGANISMO INTERNACIONAL DE ENERGIA ATÓMICA.. *Manual de Protocolos de Calidad de Radiofarmacos*. ARCAL XV, Viena: Austria, 1999.
96. OTHOMER, K.. Ácido Ascórbico. *Enciclopedia de Química Tecnológica*, [S.l.]: Chas. Pfizer & Co., First Edition, v. 2, p. 747-761, 1969.
97. OWUNWANNE, A.; PATEL, M. and SADEK, S.. *The Handbook of Radiopharmaceuticals*. London: Chapman & Hall Medical, First Edition, 1995.
98. PARFITT, K.; PARSONS, A.V. and SWEETMAN, S.C.. *Martindale-The Extra Pharmacopeia*. London: James E. F. Reynolds, p. 1379-1380, 1989.
99. PAUWELS, E.K.J.; ASKIENAZY, S.; VANKRROONENBURG, M.J.P.G. and BOK, R.. Radiopharmaceuticals for Brain Perfusion Imaging. In: THIRD INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TECHNETIUM IN CHEMISTRY AND NUCLEAR MEDICINE, *Proceedings: Technecium and Renium in Chemistry and Nuclear Medicine*, Verona: Cortina International, v. 3, p. 687-698, 1990.
100. QAIM, S.M.. Target Development for Medical Radioisotope Production at a Cyclotron. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, v. A282, p. 289-295, 1989.

- 101.** SAHA, G.B.. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. Cleveland-USA: Springer-Verlag, Third Edition, 1992.
- 102.** SCHMALJOHANN, J.; BECHERER, A.; DIEMLING, M. and KLETTER, K..
Synthesis of: [11C]-1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-di and Mono-
methylaminopropane as New C-11-labelled 5-HT₂-PET-radioligands.
Eur.J.Nucl.Med., v. 26, n. 9, OS-80, p. 980, Sep 1999.
- 103.** SEEVERS, R.H. and COUNSELL, R.E.. Radioiodination Techniques for Small
Organic Molecules. *Chemical Reviews*, v. 82, n. 6, p. 575-590, 1982.
- 104.** SHARP, P.F.; SMITH, F.W.; GEMMELL, H.G.; LYALL, D.; EVANS, N.T.S.;
GVOZDANOVIC, D.; DAVIDSON, J.; TYRRELL, D.A. ; PICKETT, R.D. and
NEIRINCKX.. Technetium-99m HM-PAO Stereoisomers as Potencial Agents for
Imaging Regional Cerebral Blood Flow: Human Volunteer Studies.
J.Nucl.Med., v. 27, p. 171-177, 1986.
- 105.** SHARP, P.F.; GEMMELL, H.; CHRRYMAN, G.; BESSON, J.; CRAWFORD, J. and
SMITH, F.. Aplication of Iodine-123-Labelled Isopropylamphetamine Imaging to
the Study of Dementia. *J.Nucl.Med.*, v. 27, p. 761-768, 1986.
- 106.** SILVERSTEIN, K.M.; BASSLER, G.C. and TENECE, C.M.. *Identificação*
Espectrométrica de Compostos Orgânicos. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan
S.A., 5ª edição, p. 223, 1994.
- 107.** SORICELLI, A.; POSTIGLIONE, A.; FOJAJA, M.R.G.; MAINENTI, P.P.;
DISCEPOLO, A.; VARRONE, A.; SALVATORE, M. and LASSEN, N.A..
Reduced Cortical Distribution Volume of Iodine-123 Iomazenil in Alzheimer's
Disease as a Measure of Loss of Synapses. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 23, n. 10, p. 1323-
1328, Oct 1996.
- 108.** SPINELLI, F.; SARA, R.; MILELLA, M.; RUFFINI, L.; STERZI, R.;
CAUSARANO, I.R. and SBERNA, M.. Thechnetiun-99m Hexamethylpropylene

- Amine Oxime Leucocyte Scintigraphy in the Differential Diagnosis of Cerebral Abscesses. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 27, n. 1, p. 46-49, 2000.
- 109.** STANKO, V.I.; IROSHNIKOVA, N.G.; VOLKOV, A.F. and KLIMOVA, A.I.. Cooper Catalysis on Isotopic Exchange as a Novel Approach to Incorporating Iodine and Bromine into Benzene Derivatives. *Int.J.Appl.Radiat.Isot.*, v. 35, p. 1129-1132, 1984.
- 110.** STÖCKLIN, G.; QAIM, S.M. and RÖSCH, F.. The Impact of Radioactivity on Medicine. *Radioc.Acta 70/71*, p. 249-272, 1995.
- 111.** SUGA, H.; HAYASHI, T. and MITSUGI, O.. Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) Findings using N-isopropyl-p-[sup 1 sup 2 sup 3 I]iodoamphetamine (sup 1 sup 2 sup 3 I-IMP) in Schizophrenia and Atypical Psychosis. *Japanese J.PsychiatryNeurology*, v. 48, n. 4, p. 833-848, Dec 1994.
- 112.** SUGOU, N.; SHIBATA, I. and NEMOTO, A.. High Uptake of N-isopropyl-p-[sup 1 sup 2 sup 3 I]-iodoamphetamine (sup 1 sup 2 sup 3 I-IMP) Demonstrated by Dynamic SPECT in Some Cases of Glioma. *J.Kaku-Igaku*, v. 33, n. 7, p. 695-704, Jul 1996.
- 113.** SUTO, Y.; KATO, T. and OHTA, Y.. MRI and N-isopropyl(I-123)p-iodoamphetamine SPECT Findings in Cases of Moyamoya Disease. *J.Yonago-Acta-Medica*, v. 36, n. 2, p. 83-90, Jul 1993.
- 114.** SUZUKI, M.; WATANABE, S.; MIYAKAWA, K.; MARUYAMA, M. and KAMIJIMA, G.. Regional Cerebral Blood Flow in Patients with Transient Ischemic Attacks (TIA) Studied by Xe-133 Inhalation Method and Single Photon Emission Computed Tomography using I-123 iodoamphetamine (IMP-SPECT). *J.No-Sotchu*, v. 13, n. 1, p. 1-7, Feb 1991.

- 115.** SZNELWAR, R.B. E AIZENSTEIN, M.L.. Estimulantes Centrais (Cap. XXI). In: ZANINI, A.C. e OGA, S.. *Farmacologia Aplicada*. São Paulo: Atheneu Editora, p. 319-328, 1985.
- 116.** TAKANO, A.; SHIGA, T.; KITAGAWA, N.; KOYAMA, T.; ADACHI, I.; MOCHIDZUKI, T.; MORITA, K.; KATO, C.; TSUKAMOTO, E. and TAMAKI, N.. Evaluation of Regional Cerebral Blood Flow Abnormalities in Patients with Anorexia Nervosa with I-123-IMP Brain SPECT: Comparison with Eating Disorders Inventory. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 26, PS-296, n. 9, p. 1126, Sep 1999.
- 117.** TAKEUCHI, I.. Hyper-Accumulation of sup 1 sup 2 sup 3 I-iodoamphetamine in the Infarcted Area During Subacute Phase of Ischemic Stroke. *J.No-Sotchu*, v. 13, n. 5, p. 352-360, Oct 1991.
- 118.** TASHIRO, M.; JUENGLING, F.; REINHARDT, M.; BRINK, I.; HOEGERLE, S.; KUBOTA, K.; ITOH, H.; SASAKI, H.; NITZSCHE, E. and MOSER, E.. Imaging of Depression in Cancer Patients using FDG-PET. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 26, n. 9, OS-200, p. 1010, Sep 1999.
- 119.** TEUSON, T.J.. Procedures, Pitfalls and Solutions in the Production of [¹⁸F]-2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose: a Paradigm in the Routine Synthesis of Fluorine-18 Radiopharmaceuticals. *J.Nucl.Med.Biol.*, v. 16, p. 533-551, 1989.
- 120.** THE INDEX MERCK. *Amphetamine*. [S.l.: s.n.], 20^a. edição, p. 98, 1996.
- 121.** THE INDEX MERCK. *Iofetamine-¹²³I*. [S.l.: s.n.], 20^a. edição, p. 865, 1996.
- 122.** THE UNITED STATES PHARMACOPEIA-THE STANDARD OF QUALITY SM. U.S.PHARMACOPEIA & NATIONAL FORMULARY.. *Biological Reactivity Test, In Vivo*. [S.l.]: Rockville, MD, p. 1832-1836, Jan 2000.

- 123.** THE UNITED STATES PHARMACOPEIA-THE STANDARD OF QUALITY SM.
U.S.PHARMACOPEIA & NATIONAL FORMULARY.. *Radioactivity*. [S.l.]:
Rockville, MD, p. 1981-1990, Jan 2000.
- 124.** TORIGOE, R.; HAYASHI, T.; ANEGAWA, S.; HARADA, K.; KIHARA, S. and
KATSURAGI, M.. Evaluation of Regional Blood Flow by Means of Single-Photon-
Emission Computed Tomography in Symptomatic Epilepsy. A Comparison of the
Early-Onset Type and the Late-Onset Type. *J.CT-Kenkyu*, v. 15, n. 1, p. 47-56,
Feb 1993.
- 125.** TSUCHIDA, S.; KUYAMA, H.; ASARI, S. and NISHIMOTO, A.. Assessment of
Regional Cerebral Blood-Flow Imaging Single-Photon-Emission Computed
Tomography with sup 1 sup 3 sup 3 Xe Inhalation, sup 1 sup 2 sup 3 I-IMP, and sup
9 sup 9 sup 99m-Tc-HM-PAO. *J.CT-Kenkyu*, v. 11, n. 4, p. 427-433, Aug 1989.
- 126.** TSUDA, Y.; AYADA, Y.; IZUMI, Y.; ICHIHARA, S.I., HOSOMI, N.; OHKAWA,
M. and MATSUO, H.. Cerebellar Diaschisis in Pontine Infracctions: a Report of Five
Cases. *Eur.J.Nucl.Med.*, v. 22, n. 5, p. 413-418, May 1995.
- 127.** WAKISAKA, M.; NAGAMACHI, S.; INOUE, K. MOROTOMI, Y.; NUNOI, K.
and FUJISHIMA, M.. Reduced Regional Cerebral Blood Flow in Aged Noninsulin-
Dependent Diabetic Patients with No History of Cerebrovascular Disease:
Evaluation by N-isopropyl-sup 1 sup 2 sup 3 I-p-iodoamphetamine with Single-
Photon Emission Computed Tomography. *J.DiabeticComplications*, v. 4, n. 4,
p. 170-174, Oct 1990.
- 128.** WALOVITCH, R.C.; HALL, K.M.; O'TOOLE, J.J. and WILLIAMS, S.J..
Metabolism of Tc-99m-ECD in Normal Volunteers. *J.Nucl.Med.*, v. 29, p. 747,
1988.
- 129.** WATANABE, Y.; TAKAGI, H.; OBA, M.; OKUBO, M. and NIWA, T.. Analysis of
IMP-SPECT in Cerebral Infarcts. *J.Neuroradiology*, v. 35, n. 6, p. 412-415, 1993.

- 130.** WEBER, W.; BARTENSTEIN, P.; GROSS, M.W.; KINZEL, D.; DASCHNER, H.; FELDMANN, H.J.; REIDEL, G.; ZIEGLER, S.I.; LUMENTA, C.; MOLLS, M. and SCHWAIGER, M. Fluorine-18-FDG PET Iodine-123-IMP SPECT in the Evaluation of Brain Tumors. *J.Nucl.Med.*, v. 38, n. 5, p. 802-808, 1997.
- 131.** WERMUTH, C.G., ED.. *The Practice of Medicinal Chemistry*. London: Academic Press, 1996.
- 132.** WINCHELL, H.S.; BADWIN, R.M. and LIN, T.H.. Development of I-123-labelled Amines for Brain Studies: Localization of I-123-Iodophenylalkyl Amines in Rat Brain. *J.Nucl.Med.*, v. 21, p. 940-946, 1980.
- 133.** WINTROBE, M.M.; CARTWRIGHT, G.G. and GUBLER, C.J.. Studies on the Function and Metabolism of Copper. *J.Nutr.*, v. 50, p. 395-419, 1953.
- 134.** YONEKURA, Y.; FUJITA, T.; NISHIZAWA, S.; IWASAKI, Y.; MUKAI, J. and KONISHI, J.. Temporal Changes in Accumulation of N-isopropyl-p-iodoamphetamine in Human Brain: Relation to Lung Clearance. *J.Nucl.Med.*, v. 30, p. 1977-1981, 1989.
- 135.** YOSHIMURA, N.; SOMA, Y. and OOTSUKI, M.. Relations Between Neuropsychological Findings and Lateral Asymmetries of Cerebral Blood Flow Measured by SPECT in Dementia of Alzheimer's Type. *J.Rinsho-Shinkeigaku*, v. 33, n. 10, p. 1029-1032, Oct 1993.
- 136.** YOSHIMURA, N.. Differences in Lateral Hemispheric Asymmetries of Cerebral Blood Flow Measures by SPECT in Dementia of Alzheimer's Type. *J.Niigata-Igakkai-Zasshi*, v. 107, n. 12, p. 1050-1056, Dec 1993.
- 137.** ZMBOVA, B.; DJOKIV, C.; BOGDANOVA, V.; ADJINOVIC, B. and RASTOVAC, M.. Synthesis of p-amino Hippuric Acid Analog and its Labelling by Technetium-99m. *Int.J.Radiot.Appl.Instrum.*, Part A: *Appl.Radiat.Ist.*, v. 40, n. 3, p. 225-234, 1989 apud ARAUJO, E.B. de.. *Conjuntos de Reativos Liofilizados*

de Compostos Diaminoditiólicos para Marcação com Tecnécio-99m. Estudo Farmacocinético e Elaboração de Modelos Compartmentalizados dos Respectivos Complexos. São Paulo: 1995. Tese (Doutoramento) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.