



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

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE CROMATOGRAFIA EM CAMADA
DELGADA PARA ANÁLISE DE IMPUREZA RADIOQUÍMICA DE ^{68}Ga -PSMA-11**

LAILA LIMA DA SILVA

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Tecnologia das
Radiações em Ciência da Saúde na
Área de Radiofarmácia e Medicina
Nuclear

Orientadora:
Prof. Dra. Elaine Bortoleti de Araújo

**São Paulo
2025**

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

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE CROMATOGRAFIA EM CAMADA
DELGADA PARA ANÁLISE DE IMPUREZA RADIOQUÍMICA DE ^{68}Ga -PSMA-11**

LAILA LIMA DA SILVA

**Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Tecnologia das
Radiações em Ciência da Saúde na
Área de Radiofarmácia e Medicina
Nuclear**

**Orientadora:
Prof. Dra. Elaine Bortoleti de Araújo**

**São Paulo
2025**



FICHA CATOLOGRÁFICA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: Laila Lima da Silva

Título: Protocolo de Validação de Método de Cromatografia em Camada Delgada para Análise de Impureza Radioquímica de ^{68}Ga -PSMA-11

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia das Radiações em Ciência da Saúde na Área de Radiofarmácia e Medicina Nuclear.

Banca examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, pela força, saúde e sabedoria concedidas ao longo de todo este percurso.

Com amor e saudade, agradeço à minha mãe, Luciana (in memoriam), cuja presença permanece viva em meu coração e cuja memória foi uma inspiração constante para seguir adiante.

À minha orientadora, Dra. Elaine Bortoleti de Araújo, expresso minha profunda gratidão pela paciência, dedicação, generosidade e por compartilhar seus conhecimentos. Sua orientação foi essencial para a realização deste trabalho.

Ao meu pai, José Carlos, pelo apoio incondicional e confiança. À minha querida irmã, Lara, pelo companheirismo; ao meu irmão, José Carlos Júnior, pelo exemplo de perseverança; e ao meu irmão, Hugo, cuja dedicação aos estudos sempre me inspirou.

Agradeço também aos amigos e familiares pelo carinho, compreensão e apoio — especialmente diante da minha ausência durante este período de dedicação.

À equipe do Centro de Radiofarmácia do IPEN — Dra. Maria Renata Freire, Luiza Balieiro, Luana Pereira e Renata Ruggier — sou grata pelos ensinamentos e pela colaboração, que tornaram o ambiente de trabalho um espaço de aprendizado constante.

Agradeço ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) e ao Programa de Mestrado Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde pela oportunidade de crescimento acadêmico e profissional.

Aos professores do mestrado, agradeço por manterem viva a chama do conhecimento e da energia nuclear, inspirando-nos com entusiasmo e responsabilidade ao longo da trajetória científica.

Aos colegas da 3ª turma, pela troca de experiências e pelo apoio mútuo — foi uma honra caminhar ao lado de vocês.

À banca examinadora, deixo meu sincero agradecimento pelas valiosas contribuições.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização desta dissertação, deixo aqui minha eterna gratidão.

RESUMO

A utilização de técnicas de imagem híbrida tem ganhado destaque no diagnóstico, estadiamento, reestadiamento e monitoramento da ocorrência após o tratamento do câncer de próstata (CPa). O uso da técnica de PET/CT (Tomografia por Emissão de Póstron/Tomografia computadorizada) utilizando o radiofármaco ^{68}Ga -PSMA-11 tem merecido destaque, devido à alta especificidade e sensibilidade. Estudos realizados por pesquisadores do Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares possibilitaram obter o radiofármaco ^{68}Ga -PSMA-11 por meio de radiomarcção de kit liofilizado com eluato de geradores de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, que demonstrou estabilidade de até 4 horas após o seu preparo, além de demonstrar especificidade do radiofármaco em estudos *in vitro* e *in vivo*, indicando alto potencial para registro do kit junto à Anvisa. Este trabalho contemplou a validação de método analítico empregado na avaliação da pureza radioquímica do radiofármaco ^{68}Ga -PSMA-11, para satisfazer requisitos de Boas Práticas de controle de qualidade e representando importante contribuição para o registro sanitário do produto. Os parâmetros Precisão (Repetibilidade e Intermediária), Seletividade, Limites de Detecção e Quantificação, Linearidade, Intervalo e Robustez foram avaliados para um método de cromatografia em camada delgada (CCD), destinado à determinação da impureza galio-68 livre presente no radiofármaco, sendo um método farmacopeico (Farmacopeia Europeia, 11^a ed.) e um método de literatura. Os resultados obtidos demonstraram a adequabilidade do método farmacopeico na determinação da impureza radioquímica, possibilitando sua aplicação na rotina de produção de lotes industriais do kit liofilizado de PSMA-11 para marcação com galio-68 como método validado.

Palavras-chave: Radiofármaco, ^{68}Ga -PSMA-11, Impureza Radioquímica, Câncer de Próstata, Validação de Método Analítico.

ABSTRACT

The use of hybrid imaging techniques has gained prominence in the diagnosis, staging, restaging, and monitoring of post-treatment prostate cancer (PCa). The use of PET/CT (Positron Emission Tomography/Computed Tomography) with the radiopharmaceutical ^{68}Ga -PSMA-11 was highlighted due to its high specificity and sensitivity. Studies conducted by researchers at the Institute of Energy and Nuclear Research enabled the production of the radiopharmaceutical ^{68}Ga -PSMA-11 by radiolabeling a lyophilized kit with $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generators eluate. The kit demonstrated stability for up to 4 hours after preparation and demonstrated specificity at *in vitro* and *in vivo* studies, indicating high potential for registration of the kit with Anvisa.

This work included the validation of the analytical method used to evaluate the radiochemical purity of the radiopharmaceutical ^{68}Ga -PSMA-11, to satisfy Good Quality Control Practices requirements and representing an important contribution to the sanitary registration of the product.

The parameters Precision (Repeatability and Intermediate), Selectivity, Limits of Detection and Quantification, Linearity, Range, and Robustness were evaluated for a thin-layer chromatography (TLC) method intended for the determination of the free gallium-68 impurity present in the radiopharmaceutical, being a pharmacopoeial method (European Pharmacopoeia 11th ed.) and a literature method. The results obtained demonstrated the suitability of the pharmacopoeial method for the determination of the radiochemical impurity, enabling its application in the routine production of industrial batches of the lyophilized PSMA-11 kit for gallium-68 labeling as a validated method.

Keywords: Radiopharmaceutical, ^{68}Ga -PSMA-11, Radiochemical Impurity, Prostate Cancer, Analytical Method Validation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema representativo do câncer de próstata.....	20
Figura 2 - Estrutura representativa do PSMA.....	25
Figura 3 - Estrutura química do PSMA-11 marcado com o radionuclídeo ^{68}Ga , o quelante HEBD-CC e o fragmento funcional de ligação ao PSMA (Glu-NH-CO-NH-Lys(Ahx)).....	28
Figura 4 - Esquema de decaimento de ^{68}Ga para ^{68}Zn estável.....	29
Figura 5 - Esquema de cromatografia em camada delgada (CCD-SG).....	31
Figura 6 - Fórmula estrutural do gozetotida (^{68}Ga).....	37
Figura 7 - .Fita cromatográfica (Fibra de vidro impregnada com sílica-gel iTLC-SG).....	40
Figura 8 - Indicação do corte da fita cromatográfica iTLC-SG.....	44
Figura 9 - Gráfico dos teste de repetibilidade e precisão intermediária	56
Figura 10 - Análise gráfica da distribuição dos testes de repetibilidade e precisão intermediária.....	57
Figura 11 - Cromatograma do produto ^{68}Ga -PSMA-11.....	58
Figura 12 - Cromatograma da impureza $^{68}\text{GaCl}_3$	60
Figura 13 - Cromatograma do produto ^{68}Ga -PSMA-11 e da impureza $^{68}\text{GaCl}_3$	62
Figura 14 - Cromatograma do produto ^{68}Ga -PSMA-11 + manitol.....	64
Figura 15 - Cromatograma da impureza $^{68}\text{GaCl}_3$ + manitol.....	66
Figura 16 - Representação gráfica do ensaio da robustez.....	67
Figura 17 - Representação do gráfico de regressão linear de linha ajustada das diluições de 3% a 120%.....	69
Figura 18 - Representação gráfica da dispersão dos resíduos.....	70
Figura 19 - Perfil cromatográfico do ^{68}Ga -PSMA-11 e do $^{68}\text{GaCl}_3$ por CCD com fita iTLC e solvente citrato de sódio.....	76
Figura 20 - Perfil cromatográfico do ^{68}Ga -PSMA-11 e do $^{68}\text{GaCl}_3$ em diferentes sistemas cromatográficos.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de validação da ANVISA.....	34
Tabela 2 - Composição dos frascos do kit de PSMA-11.....	38
Tabela 3 - Componentes e volumes das soluções para preparo de amostra de ^{68}Ga -PSMA-11 para repetibilidade.....	46
Tabela 4 - Componentes das soluções utilizadas no ensaio da seletividade.....	49
Tabela 5 - Soluções com os respectivos volumes e atividades utilizadas no ensaio de seletividade	49
Tabela 6: Parâmetros analíticos (variáveis) utilizados no ensaio da robustez.....	51
Tabela 7 - Preparo e diluições de ^{68}Ga -PSMA-11 para ensaio de robustez.....	51
Tabela 8 - Preparo das soluções para teste de linearidade.....	53
Tabela 9 - Resultados das contagens (cpm) do ensaio de repetibilidade.....	54
Tabela 10 - Resultados das contagens (cpm) do ensaio de precisão intermediária..	55
Tabela 11: Resultados do ensaio da repetibilidade do ^{68}Ga -PSMA-11.....	55
Tabela 12 - Resultados do ensaio da precisão intermediária do ^{68}Ga -PSMA-11.....	56
Tabela 13 - Perfil cromatográfico do produto ^{68}Ga -PSMA-11.....	57
Tabela 14 - Perfil cromatográfico da impureza $^{68}\text{GaCl}_3$	59
Tabela 15 - Perfil cromatográfico da impureza $^{68}\text{GaCl}_3$ do produto ^{68}Ga -PSMA-11...	61
Tabela 16 - Perfil cromatográfico do produto ^{68}Ga -PSMA-11 + manitol.....	63
Tabela 17- Perfil cromatográfico da impureza $^{68}\text{GaCl}_3$ + manitol.....	65
Tabela 18 - Resultado da impureza radiouímica encontrada em cada ensaio da robustez.....	67
Tabela 19 - Concentrações radioativas das amostras e respectivas contagens (cpm) no ensaio de linearidade.....	68
Tabela 20 - Parâmetros da curva analítica obtidos a partir da tabela de ANOVA com significância de 5% e especificação dos parâmetros conforme Guia 10 da RDC 166 (Anvisa).....	69
Tabela 21 - Faixa de trabalho.....	71
Tabela 22 - Resultado do ensaio de verificação do sistema (<i>system suitability</i>) para a solução de referência (a), contendo $^{68}\text{GaCl}_3$, conforme descrito na Farmacopeia Europeia, 11ª ed.....	73

Tabela 23 - Condições experimentais avaliadas para obtenção do valor de R_f adequado da solução de referência (b) no ensaio de verificação do sistema (*system suitability*), conforme especificado pela Farmacopeia Europeia, 11^a ed.....73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

⁶⁸Ga: Gálio-68

⁶⁸GaCl₃: Cloreto de Gálio-68

⁶⁸Ge: Germânio-68

⁶⁸Zn: Zinco - 68

Anvisa: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATM: Gene associado à predisposição ao câncer

BRCA1: Gene associado à predisposição ao câncer

BRCA2: Gene associado à predisposição ao câncer

BPF: Boas Práticas de Fabricação

CaP: Câncer de Próstata

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

CHEK2: Gene associado à predisposição ao câncer

CLAE: Cromatografia a Líquido de alta eficiência

CNEN: Comissão Nacional de Energia Nuclear

CO: Cintilografia óssea

CPM: Contagem por minuto CQ: Controle de qualidade

CT: *Computer Tomography* - Tomografia Computadorizada

D. a: Distância percorrida pelo soluto

D.FM: Distância percorrida pela fase móvel

DHT: Diidrotestosterona

DP: Desvio padrão

DPR: Desvio padrão relativo

DRE: exame retal digital

EAU: Associação Europeia de Urologia

ed.: Edição

ERSPC - *European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer*

HCl: Ácido Clorídrico

HOXB13: Gene associado à predisposição ao câncer

INCA: Instituto Nacional do Câncer

IPEN – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

iTLC-SG (*instant Thin Layer Chromatography-Silica Gel*) - Suporte cromatográfico de fibra de vidro impregnada com sílica-gel

keV: Quilo-Elétron-volt

MBq: Megabecquerel

MBq/mL: Megabecquerel por mililitro

mCi: Milicurie

mg: Miligrama

mL: Mililitro

MeV: Mega Elétron-volt

mCi: Milicurie

NBS1: Gene associado à predisposição ao câncer

NaCl: Cloreto de sódio

PLCO: *Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial*

PET: *Positron Emission Tomography* - Tomografia por Emissão de Pósitrons

pH: Potencial Hidrogeniônico

qsp: quantidade suficiente para

PSA: Antígeno Prostático Específico

PSMA: Antígeno de Membrana Específico da Próstata

PSMA-11: Peptídeo ligante de PSMA utilizado para marcação com gálio-68

PRQ: Pureza radioquímica

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada

Rf: fator de retenção

RM: Ressonância Magnética

SPECT: *Single Photon Emission Computed Tomography* - Tomografia

Computadorizada por Emissão de Fóton Único

TLC-SG (*Thin Layer Chromatography-Silica Gel*) - Suporte cromatográfico de sílica gel 60 em placa de alumina

-

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	144
2 OBJETIVO..	146
2.1 Justificativa	166
3 REVISÃO DA LITERATURA	667
3.1 Câncer de próstata.....	Error! Indicador Não Definido .7
3.2 Etiologia	19
3.3 Fatores de risco.....	20
3.4 Diagnóstico.....	21
3.5 Imagem molecular.....	23
3.6 Antígeno específico de membrana prostática (PSMA).....	24
3.7 Peptídeos inibidores de PSMA.....	26
3.8 Radionuclídeo para imagem: gálio-68.....	28
3.9 Técnica analítica - Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	30
3.10 Boas práticas de fabricação de radiofármacos.....	32
3.11 Validação de método analítico.....	32
3.12 Parâmetros analíticos para validação do método.....	33
4 MATERIAIS.....	37
4.1 Infraestrutura.....	37
4.2 Especificação da Amostra.....	37
4.3 Reagente e soluções	38
4.4 Equipamentos e materiais.....	39
5 MÉTODOS.....	41
5.1 Radiomarcagem.....	41
5.2 Preparo da bancada.....	41
5.3 Preparo de soluções.....	42
5.3.1 Preparo da fase móvel.....	42
5.3.2 Preparo da cuba - saturação do ambiente	42
5.3.3 Preparo da amostra radioativa.....	42
5.3.4 Preparo da solução de referência.....	43
5.4 Ensaio.....	43
5.4.1 Análise.....	43

5.4.2 Leitura da radioatividade.....	44
5.4.3 Cálculo.....	45
6 PARÂMETROS ANALÍTICOS PARA A VALIDAÇÃO DO MÉTODO.....	46
6.1 Repetibilidade e Precisão Intermediária	46
6.1.1 Repetibilidade.....	46
6.1.2 Precisão intermediária.....	47
6.2 Seletividade.....	48
6.2.1 Preparo das amostras para ensaio da seletividade.....	48
6.2.1.1 Amostra do produto (^{68}Ga -PSMA-11).....	48
6.2.1.2 Amostra da impureza ($^{68}\text{GaCl}_3$).....	48
6.2.1.3 Amostra do excipiente (manitol).....	48
6.3 Robustez.....	50
6.4 Linearidade.....	52
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
7.1 Repetibilidade e Precisão Intermediária	54
7.2 Seletividade	57
7.3 Robustez.....	66
7.4 Linearidade.....	68
7.5 Intervalo.....	71
7.6 Limite de quantificação.....	72
7.7 Exatidão.....	72
7.8 System suitability.....	72
8 SISTEMA CROMATOGRÁFICO ALTERNATIVO.....	75
9 CONCLUSÃO	77
11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

1 INTRODUÇÃO

O câncer de próstata (CaP) é o segundo câncer masculino mais comumente diagnosticado em todo o mundo, com incidência global estimada e taxas de mortalidade de 7,3% e 4,1%, respectivamente, no ano de 2022 (BRAY et al., 2022). No Brasil, estima-se a ocorrência de aproximadamente 704 mil novos casos de câncer no triênio 2023–2025, sendo o câncer de próstata o tipo mais incidente entre os homens, com cerca de 71 mil casos novos previstos (SANTOS et al., 2023).

A classificação de Gleason, a histopatologia, e a imunohistoquímica foram as bases para o diagnóstico, estadiamento, prognóstico e tomada de decisão clínica em pacientes com carcinoma da próstata (SAMARATUNGA et al., 2016). Embora a introdução do exame de PSA (antígeno prostático específico) tenha levado ao diagnóstico precoce de câncer de próstata, uma alternativa mais precisa para avaliar o estadiamento da doença é crucial para as decisões de tratamento (PERERA et al., 2016).

O desempenho das técnicas de imagem anatômicas na avaliação de metástases primárias é fraco o que encorajou o desenvolvimento de técnicas de imagem molecular na avaliação do CPa (FENDLER et al., 2023).

O antígeno de membrana prostático específico (PSMA) é uma proteína expressa nas células displásicas da próstata, com níveis de expressão de 100-1000 vezes maiores do que as células saudáveis, que aumentam ainda mais com estágios e graus mais elevados do câncer de próstata (AFSHAR-OROMIEH et al., 2014). O PSMA demonstrou ter alta afinidade e internalização específica nas células do câncer de próstata (HUANG et al., 2024).

A radiomarcagem com galio-68 (^{68}Ga) de moléculas dirigidas ao PSMA tem possibilitado a utilização de imagens PET/CT (*Positron Emission Tomography* - Tomografia por Emissão de Pósitrons/ *Computer Tomography* - Tomografia Computadorizada) no diagnóstico do CPa. O ^{68}Ga -PSMA-11 apresenta seu acúmulo proporcional ao nível de expressão do PSMA (BLUEME et al., 2016). Está bem estabelecido o uso do PET/CT com ^{68}Ga -PSMA-11 principalmente no contexto de

recidiva bioquímica, mas também para fins de estadiamento (POMYKALA et al., , 2019).

O ^{68}Ga pode ser obtido por meio do gerador de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, tornando-o conveniente para imagens PET não sendo necessário a instalação de um ciclotron (LEPAREUR, 2022).

Para a realização de PET/CT com ^{68}Ga -PSMA-11, a radiomarcação é realizada na própria radiofarmácia hospitalar podendo ser utilizado um módulo de síntese automatizado. Neste caso, devido às etapas de purificação inerentes ao processo, o rendimento da síntese automatizada é da ordem de 70 a 80% levando em consideração o decaimento radioativo (ALCARDE, 2016).

Outro método de radiomarcação de moléculas com ^{68}Ga utiliza a marcação direta de “kits para pronta marcação”, à semelhança do que é realizado na marcação de kits com $^{99\text{m}}\text{Tc}$. O processo de marcação direta normalmente é mais rápido e com rendimento maior, já que não envolve etapas de montagem do módulo de síntese e de purificação do radiofármaco (FREIRE, 2024). Esta é uma importante vantagem, considerando-se o tempo de meia vida curto do ^{68}Ga (MEISENHEIMER, 2020). Um “kit para pronta marcação” de PSMA-11 foi desenvolvido pelo IPEN/CNEN (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Comissão Nacional de Energia Nuclear) na forma liofilizada e possui alto potencial para ser registrado junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

Para obtenção do registro sanitário é necessário seguir as Boas Práticas de Fabricação (BPF) previstas na RDC 658 de 2022 da Anvisa, complementada pela IN nº 128 de 2022 da Anvisa, que trata de BPF de radiofármacos e IN nº 35 de 2019 da Anvisa, que dispõe sobre a produção de medicamentos estéreis, além da RDC nº 738 de 2022 que dispõe sobre o registro, notificação, importação e controle de qualidade de radiofármacos (BRASIL, 2019; 2022a; 2022b; 2022c).

A determinação da pureza radioquímica é uma das etapas do controle de qualidade de um radiofármaco. Métodos cromatográficos são comumente empregados na determinação da pureza radioquímica, como a cromatografia em papel, cromatografia em camada delgada (CCD) e a cromatografia em líquido de alta eficiência (CLAE) (MOLAVIPORDANJANI; HOSSEINIMEHR, 2018).

2 OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi desenvolver e executar o protocolo de validação de método analítico farmacopeico (Farmacopeia Europeia 11^a ed.) de cromatografia em camada delgada (CCD) empregado no controle de qualidade radioquímico do ⁶⁸Ga-PSMA-11, radiomarcado a partir do “kit para pronta marcação” que foi desenvolvido pelo IPEN/CNEN, a fim de constituir os requisitos de BPF para obtenção do registro do kit junto à Anvisa. Adicionalmente, o trabalho pretendeu avaliar a seletividade de método de CCD alternativo.

2.1 Justificativa

O ⁶⁸Ga-PSMA-11 tem o potencial de alterar significativamente a tomada de decisão em pacientes com CaP e a sua aplicabilidade está em franco crescimento na medicina nuclear. O kit para pronta marcação do PSMA-11 desenvolvido pelo IPEN representa uma oportunidade para a consolidação da técnica diagnóstica no Brasil. A validação do método de cromatografia em camada delgada, a ser utilizado na rotina de controle de qualidade de lotes industriais do kit de PSMA-11 para pronta marcação com galio-68, é uma exigência regulamentar da Anvisa para obtenção da certificação em boas práticas de fabricação da linha de produção do novo kit liofilizado que, por sua vez, é pré-requisito para obtenção do registro sanitário, ressaltando a importância dos produtos tecnológicos desenvolvidos nesta dissertação, qual seja, o protocolo e o relatório de validação do método analítico.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Câncer de próstata

O câncer representa um grupo heterogêneo de doenças cuja fisiopatologia está relacionada a mutações genéticas que promovem proliferação celular descontrolada, podendo evoluir de forma agressiva e invasiva, com intensidade variável conforme o tipo histológico, a expressão de receptores específicos e o estadiamento da doença (BRAVO et al., 2022).

A próstata, por sua vez, é uma glândula do sistema reprodutor masculino classificada entre as glândulas sexuais acessórias, localizada entre a bexiga e o reto. Sua principal função é a secreção do líquido prostático, rico em enzimas proteolíticas, como o antígeno prostático específico (PSA), além de outras substâncias essenciais à nutrição e sobrevivência dos espermatozoides (PEREIRA et al., 2021).

O câncer de próstata (CaP) origina-se da multiplicação desordenada de células prostáticas, que podem gerar metástases com potencial de invadir tecidos adjacentes e se disseminar pelo organismo via sistemas linfático e sanguíneo (PEREIRA et al., 2021). Embora os mecanismos que determinam o ritmo de crescimento prostático ainda não estejam completamente esclarecidos, sabe-se que esse crescimento tende a se intensificar a partir dos 50 anos. A idade é considerada o principal fator de risco para o desenvolvimento do câncer, com aumento significativo da probabilidade de ocorrência a partir dos 50 anos. No entanto, outros elementos também contribuem para a predisposição à doença, incluindo histórico familiar, fatores genéticos de caráter hereditário, tabagismo, excesso de gordura corporal e características étnicas (INCA, 2023).

Em fases iniciais, o tumor geralmente é assintomático e pode ser detectado por meio da elevação dos níveis séricos de PSA ou por alterações ao exame de toque retal (OLIVEIRA et al., 2018). Nessa fase, também pode se manifestar como hipertrofia prostática benigna e dificuldade para urinar. Em estágios avançados, os sintomas incluem dor óssea, infecções sistêmicas, insuficiência renal e agravamento da obstrução urinária (KRÜGER et al., 2018).

O CaP é o segundo câncer mais comumente diagnosticado em todo o mundo e a quinta principal causa de morte por câncer entre os homens em todo o mundo, com estimativas de mais de 1,46 milhão de novos casos e 396 mil óbitos em 2022.

Esses dados representam incidência global e taxas de mortalidade de 7,3% e 4,1%, respectivamente (BRAY et al., 2022).

As projeções indicam que, até 2040, a carga global da doença deve atingir cerca de 2,4 milhões de casos e 712 mil mortes, impulsionada exclusivamente pelo envelhecimento e crescimento da população mundial (ZHENG et al., 2022).

No Brasil, o câncer permanece como um dos principais problemas de saúde pública, sendo responsável por elevada morbimortalidade. O Instituto Nacional do Câncer (INCA) estima a ocorrência de aproximadamente 704 mil novos casos, dos quais 483 mil excluem o câncer de pele não melanoma, para o triênio 2023–2025. Entre os tipos mais incidentes estão o câncer de mama feminina (73 mil casos) e o de próstata (71 mil casos), cada um representando cerca de 15% dos casos novos.

O CaP é o mais frequente entre os homens, respondendo por 30% dos casos masculinos e apresentando taxa ajustada nacional de 55,49 casos por 100 mil homens, com as maiores taxas nas regiões Nordeste e Centro-Oeste. A distribuição da incidência no país reflete desigualdades regionais significativas, com padrões epidemiológicos que mesclam características de países desenvolvidos e em desenvolvimento, tornando necessária a vigilância constante e o aprimoramento das estratégias de prevenção, diagnóstico e tratamento (SANTOS et al., 2023).

As maiores taxas de incidência registradas de câncer de próstata são observadas em países desenvolvidos, onde há conscientização sobre o câncer de próstata e onde o teste de PSA é uma prática de rastreamento prevalente (Sekhoacha et al., 2022).

Do ponto de vista epidemiológico, o câncer de próstata configura-se como um dos principais desafios da saúde pública, não apenas por sua alta incidência, mas também pelo impacto clínico, social e econômico decorrente do diagnóstico tardio e das complicações associadas à doença avançada (INCA, 2023). Sua importância clínica reside no fato de que, embora seja potencialmente curável em estágios iniciais, grande parte dos casos ainda é diagnosticada em fases mais avançadas, o que compromete as possibilidades terapêuticas e afeta negativamente a sobrevida e a qualidade de vida dos pacientes (BRAY et al., 2022). A relevância de estratégias eficazes de rastreamento e acesso ao diagnóstico precoce é, portanto, crucial para o manejo adequado do câncer de próstata (ZHENG et al., 2022).

3.2 Etiologia

A etiologia do CaP é multifatorial e ainda não completamente esclarecida, sendo influenciada por uma interação complexa entre fatores genéticos, hormonais, ambientais e comportamentais. A idade é considerada o principal fator de risco estabelecido, com a maioria dos casos ocorrendo em homens com mais de 65 anos, sendo que aproximadamente 60% dos diagnósticos globais estão concentrados nessa faixa etária (BRAY et al., 2022; INCA, 2023).

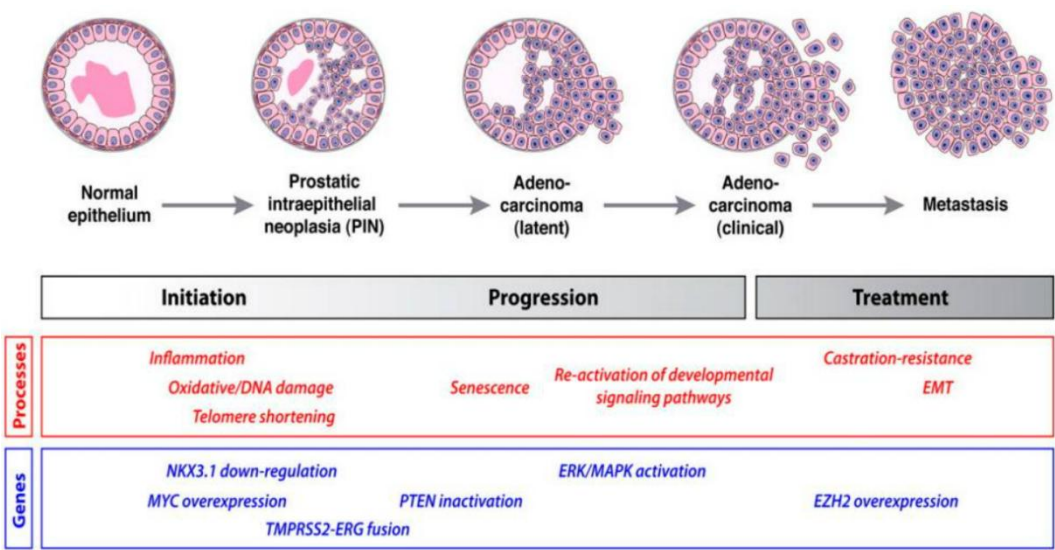
A hereditariedade também desempenha um papel importante, com homens que possuem histórico familiar da doença, especialmente em parentes de primeiro grau, apresentando um risco até duas vezes maior de desenvolver CaP. Alterações genéticas, como mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 também têm sido implicadas em uma parcela dos casos de câncer de próstata agressivo (PLATA BELLO; CONCEPCIÓN MASIP, 2014). Pesquisas em genômica identificaram processos moleculares, como rearranjos cromossômicos, que resultam no desenvolvimento de certos tipos de câncer. Mutações genéticas são uma causa prevalente de câncer, incluindo aquelas em genes de reparo de DNA como ATM, BRCA1 e BRCA2, presentes em cerca de 5,5% dos homens diagnosticados com câncer de próstata ou em alto risco. Essas mutações podem ser herdadas ou adquiridas durante a replicação do DNA, levando à desativação de genes supressores tumorais e à ativação de oncogenes, o que pode causar a divisão celular descontrolada (SHRESTHA et al., 2023).

Os hormônios androgênicos, especialmente a testosterona e a diidrotestosterona (DHT), são fundamentais no desenvolvimento e na progressão da glândula prostática. Alterações na via do receptor androgênico ou no metabolismo hormonal podem favorecer a transformação maligna de células prostáticas (TOURINHO-BARBOSA; POMPEO; GLINA, 2016). Além disso, estudos apontam que variações genéticas na biossíntese e no metabolismo de andrógenos também podem contribuir para o risco da doença (PLATA BELLO; CONCEPCIÓN MASIP, 2014).

Um esquema representativo do desenvolvimento do câncer de próstata está demonstrado na Figura 1. Os estágios de início e progressão do câncer são indicados pelos processos moleculares, genes e vias de sinalização que são importantes em diferentes estágios do câncer. O primeiro sinal de câncer de próstata é uma inflamação da próstata como resultado da divisão celular incontrolável. Essa

divisão celular incontrolável é causada por mutações que surgem devido a danos no DNA. Em nível cromossômico, o início do câncer de próstata começa com o encurtamento da telomerase na extremidade do cromossomo (SEKHOACHA, 2022). O estresse oxidativo da inflamação da próstata pode encurtar os telômeros prostáticos. A metástase do câncer de próstata é conservada pela reativação de vias envolvidas na divisão celular, o que resulta em divisão celular descontrolada e proliferação celular, levando à metástase do câncer (SHRESTHA et al., 2023).

Figura 1 - Esquema representativo do câncer de próstata.



Fonte: Adaptado de (SEKHOACHA, 2022).

Compreender os fatores associados ao desenvolvimento do CaP é essencial para orientar estratégias de prevenção, rastreamento precoce e, sobretudo, para o desenvolvimento de alvos moleculares mais específicos.

3.3 Fatores de risco

Entre os fatores de risco não modificáveis, destacam-se a idade, a etnia e o histórico familiar. Homens negros ou afro-americanos, por exemplo, têm taxas significativamente mais altas de incidência e mortalidade por CaP em comparação aos homens brancos, o que pode refletir uma interação entre fatores genéticos e determinantes sociais da saúde (SHRESTHA et al., 2023). Mutações em genes como HOXB13, BRCA2 e outros envolvidos na via de reparo do DNA (ATM, CHEK2,

NBS1, síndrome de Lynch) estão relacionadas a formas mais agressivas e metastáticas do CaP (SEKHOACHA et al., 2022).

Dentre os fatores modificáveis, incluem-se tabagismo, dieta, atividade física e fatores ocupacionais. Dietas com alto índice inflamatório estão associadas a maior risco de desenvolvimento e agressividade do CaP, enquanto padrões alimentares baseados em vegetais ou mediterrâneos parecem exercer efeito protetor. A ingestão elevada de proteína láctea (>30 g/dia) foi associada a aumento do risco. Embora o comportamento sedentário não tenha associação clara com o risco, níveis mais altos de atividade física estão relacionados a maior sobrevida livre de câncer e menor mortalidade específica. A qualidade do sono, mais do que sua duração, também pode impactar a agressividade da doença (SHRESTHA et al., 2023).

3.4 Diagnóstico

O diagnóstico precoce das lesões provocadas pelo câncer de próstata é clinicamente relevante, pois influencia diretamente o estadiamento da doença, a definição do prognóstico e a escolha da terapia (AFSHAR et al., 2014).

O diagnóstico do câncer de próstata geralmente se inicia com exames de rastreamento, como o exame retal digital (DRE) e a dosagem do antígeno prostático específico (PSA). Embora o PSA tenha revolucionado a detecção da doença, ele não é específico para o câncer, podendo se elevar também em condições benignas como hiperplasia prostática benigna e prostatite. Para melhorar sua acurácia, utiliza-se a razão PSA livre/total e a avaliação da cinética do PSA (velocidade de aumento e tempo de duplicação), especialmente em pacientes com valores intermediários de PSA (ARLEN et al., 2008).

Níveis elevados de PSA tendem a se correlacionar com maior gravidade clínica e pior prognóstico, ao passo que valores mais baixos estão geralmente associados a estágios iniciais e melhor expectativa de vida (CHIONG; WONG; CHIN, 2005).

A Associação Europeia de Urologia (EAU) recomenda a dosagem do PSA já aos 40 anos para estabelecer um valor basal e definir a frequência do rastreamento, considerando fatores como idade e risco individual (HEIDENREICH et al., 2014). Estudos populacionais como o ERSPC (*European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer*) demonstraram que o rastreamento periódico pode reduzir a mortalidade por câncer de próstata em até 20%, embora com risco de

sobrediagnóstico, enquanto o estudo PLCO (*Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial*) não identificou benefício significativo (SCHRÖDER et al., 2009).

Nos estágios iniciais, o câncer de próstata costuma ser assintomático, e os sinais clínicos surgem mais frequentemente em fases avançadas, com sintomas do trato urinário inferior, como hesitação miccional, jato fraco, mictúria, urgência e, menos frequentemente, sinais como hematúria ou dor óssea. A confirmação diagnóstica é realizada por meio de biópsia prostática guiada por ultrassonografia transretal, indicada na presença de PSA elevado e/ou TR suspeito. A biópsia deve ser direcionada à zona periférica da próstata, onde os tumores são mais frequentes, com possibilidade de repetições caso o PSA permaneça elevado mesmo após biópsia inicial negativa (LOUREIRO et al., 2025).

Entre os métodos de imagem, a ressonância magnética multiparamétrica (RMm) é considerada a técnica de escolha para a avaliação diagnóstica e o estadiamento, devido à sua alta sensibilidade na detecção de tumores agressivos e capacidade de guiar biópsias com maior precisão (TURKBEY et al., 2010). Entretanto, essa técnica enfrenta restrições significativas, pois não consegue detectar lesões linfonodais menores que 8 mm (TSECHLIDIS et al., 2022).

A ultrassonografia transretal (ETR), embora amplamente usada, possui baixa especificidade (HERANZ et al., 2006). A tomografia computadorizada (TC) é reservada para casos avançados, com suspeita de acometimento ganglionar ou metastático. A cintilografia óssea (CO), por sua vez, é o principal exame para investigação de metástases ósseas, especialmente indicada em pacientes com PSA elevado ($>10\text{--}20$ ng/mL) ou com doença em estágio avançado, sendo mais precisa quando combinada com SPECT (tomografia computadorizada por emissão de fóton único) ou SPECT-CT (HRICAK et al., 2007).

Em cenários clínicos mais complexos, como a recidiva bioquímica após tratamento ou o estadiamento de alto risco, os métodos de imagem convencionais podem apresentar limitações diagnósticas. Nesse contexto, técnicas de imagem molecular, como a tomografia por emissão de pósitrons (PET/CT) com radiofármacos marcados com o antígeno de membrana específico da próstata (PSMA), vêm se consolidando como ferramentas valiosas na detecção precoce de metástases e na avaliação da extensão da doença (FENDLER et al., 2019).

A incorporação da imagem molecular na prática clínica tem contribuído para um estadiamento mais acurado e para o planejamento terapêutico mais individualizado, especialmente nos casos em que o PSA se encontra elevado, mas os achados convencionais são inconclusivos (TSECHELIDIS et al., 2022).

3.5 Imagem molecular

Imagem molecular é definida como a capacidade de visualizar, caracterizar e quantificar processos biológicos em níveis moleculares e celulares, tanto em seres humanos quanto em outros organismos vivos. Esse tipo de abordagem geralmente envolve imagens bidimensionais ou tridimensionais associadas à quantificação ao longo do tempo. Diversas técnicas são utilizadas, incluindo o uso de radiofármacos nas modalidades de medicina nuclear, como a SPECT (*Single Photon Emission Computed Tomography* - Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único) e a PET, além de métodos como a ressonância magnética, imagem óptica e ultrassonografia (POMPER e GELOVANI, 2008).

No contexto da medicina nuclear, os radiofármacos desempenham papel central tanto no diagnóstico quanto na terapia de doenças de diferentes origens. De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 738/2022 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), radiofármaco é definido como um medicamento com finalidade diagnóstica ou terapêutica que, quando pronto para o uso, contém um ou mais radionuclídeos. A definição também abrange os componentes não radioativos destinados à marcação, bem como os precursores radiofarmacêuticos, incluindo os radionuclídeos obtidos a partir de geradores. Em geral, esses compostos são formados por um radionuclídeo ligado a uma molécula carreadora sem ação farmacológica própria. A maior parte é utilizada para fins diagnósticos, sendo composta por radionuclídeos emissores gama com energia entre 80 e 300 keV, o que contribui para minimizar a dose de radiação absorvida pelo paciente (SAHA, 2005). Para fins terapêuticos, são empregados radiofármacos emissores de partículas ionizantes, como partículas alfa, beta ou elétrons de Auger, cuja escolha depende de fatores como o tamanho do tumor, a distribuição intratumoral e a farmacocinética da molécula (THOBIAS et al., 2020).

Embora os radiofármacos não apresentem ação farmacológica tradicional, sua administração requer o cumprimento rigoroso dos mesmos padrões de qualidade

aplicados aos fármacos convencionais, acrescidos de exigências específicas da área nuclear. O controle de qualidade (CQ) desses compostos apresenta particularidades relacionadas à via de administração e à finalidade clínica. No caso de uso endovenoso, o radiofármaco deve obrigatoriamente ser estéril, apirogênico, isotônico, possuir pH próximo ao fisiológico e apresentar pureza radioquímica e radionuclídica dentro dos limites estabelecidos, a fim de minimizar a presença de substâncias indesejadas ou sua deposição fora das áreas fisiológicas de biodistribuição. Tais exigências são fundamentais para garantir tanto a segurança do paciente quanto a qualidade da imagem obtida ou a eficácia terapêutica (European Pharmacopoeia, 2022).

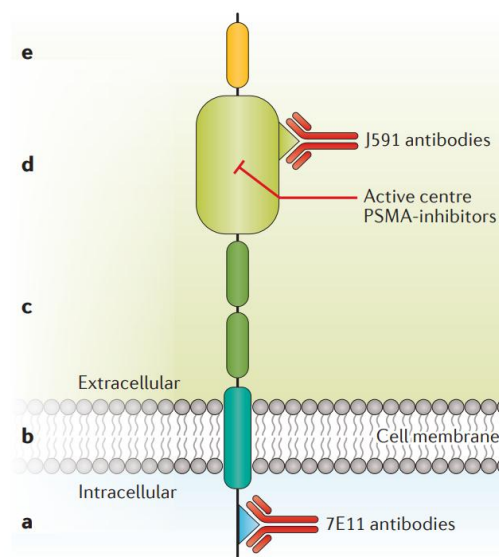
As técnicas de PET e SPECT, por sua vez, permitem a detecção não invasiva de alterações metabólicas e funcionais em tecidos patológicos, mesmo em fases iniciais do processo patológico, conferindo elevada sensibilidade à avaliação de processos celulares anormais (WÄNGLER et al., 2011). Para alcançar esse desempenho diagnóstico, os radiofármacos devem apresentar alta afinidade por alvos moleculares superexpressos nos tecidos tumorais, além de serem eficientemente internalizados pelas células neoplásicas. Isso favorece a concentração seletiva do traçador nas regiões de interesse, otimizando a qualidade da imagem obtida. Além disso, é essencial que a cinética de eliminação da biomolécula seja adequada: o clareamento sanguíneo deve ocorrer de forma mais rápida que a depuração do tecido-alvo, garantindo contraste ideal para aquisição das imagens (Tanaka e Fukasa, 2008).

3.6 Antígeno específico de membrana prostática (PSMA)

O antígeno de membrana específico da próstata (PSMA) é uma proteína transmembrana do tipo II (ver Figura 2), cuja primeira descrição foi realizada em 1993 por Israeli et al. O gene responsável por sua codificação, conhecido como FOLH1, está localizado no braço curto do cromossomo 11. Em condições fisiológicas, o PSMA é expresso principalmente na região apical das células epiteliais da próstata, especialmente ao redor dos ductos prostáticos. Entretanto, alterações displásicas ou neoplásicas levam à redistribuição dessa expressão para a superfície luminal dos ductos. À medida que o câncer de próstata evolui em estágio e grau, há um aumento significativo na expressão do PSMA na membrana celular.

Em casos avançados, como o carcinoma resistente à castração, esse padrão de superexpressão se acentua ainda mais. Estima-se que a expressão de PSMA em células tumorais prostáticas seja entre 100 a 1000 vezes superior à observada em células prostáticas normais (VELIKYAN, 2013).

Figura 2 - Estrutura representativa do PSMA.



Fonte: Adaptado de (Maurer, 2016).

O PSMA pode existir tanto na forma de monômeros quanto de dímeros, sendo esta última a conformação funcional necessária para sua atividade enzimática na superfície celular. Uma característica importante dessa proteína é sua capacidade de internalização, embora o mecanismo que desencadeia esse processo ainda não esteja completamente compreendido. Acredita-se que o PSMA possa atuar como um transportador transmembrana para um ligante ainda desconhecido, uma vez que sua internalização se assemelha ao processo de endocitose mediada por receptores endógenos (BARINKA et al., 2008).

A função fisiológica exata do PSMA nas células prostáticas ainda não está totalmente esclarecida. Em outros tecidos, como o sistema nervoso central, essa proteína atua como NAALADase, catalisando a degradação do neurotransmissor N-acetil-aspartil-glutamato (NAAG). Já no trato gastrointestinal, exerce atividade de

carboxipeptidase e folato hidrolase, promovendo a liberação de folato livre a partir do folato poliglutamado, o que facilita sua absorção intestinal (MHAWECH-FAUCEGLIA et al., 2008).

Durante a carcinogênese e progressão do câncer de próstata, o PSMA pode desempenhar múltiplas funções. A sua atividade de folato hidrolase na membrana celular pode facilitar a reutilização de folato liberado no microambiente tumoral, especialmente a partir de células necróticas, contribuindo para a síntese de DNA, metilação epigenética e produção de poliaminas — processos fundamentais para a proliferação celular. Além disso, a liberação de glutamato pelo PSMA pode ativar receptores glutamatérgicos e modular canais iônicos, levando ao influxo de cálcio, o que está associado ao aumento da agressividade tumoral (MHAWECH-FAUCEGLIA et al., 2008; BARINKA et al., 2008).

Dada sua alta superexpressão nas células tumorais prostáticas, seu envolvimento em mecanismos que favorecem a malignidade e sua expressão limitada em tecidos não prostáticos, o PSMA tem se consolidado como um alvo altamente promissor para estratégias diagnósticas e terapêuticas no câncer de próstata (HILLIER et al., 2009).

3.7 Peptídeos inibidores de PSMA

Duas abordagens distintas têm sido empregadas no desenvolvimento de moléculas específicas para o PSMA. A primeira baseia-se na estrutura molecular da proteína e utiliza anticorpos monoclonais como vetores de direcionamento (YAO et al., 2002). Já a segunda estratégia explora a atividade enzimática do PSMA, utilizando inibidores enzimáticos de pequenas moléculas como base para o desenvolvimento de agentes específicos.

Ambas as estratégias demonstraram resultados promissores na literatura, tanto para fins diagnósticos quanto terapêuticos no câncer de próstata. No entanto, a abordagem baseada em inibidores enzimáticos radiomarcados tem ganhado maior destaque, devido à sua melhor penetração tumoral, rápida depuração e maior especificidade, ofuscando progressivamente o uso de anticorpos monoclonais (PINTO et al., 1996).

Os inibidores de PSMA baseados em ureia consistem em peptídeos de baixo peso molecular, geralmente formados por dois aminoácidos conectados por uma

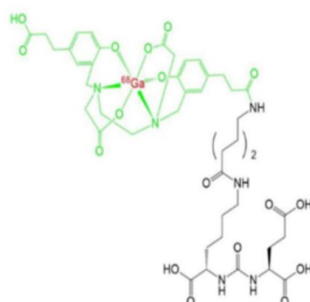
ligação do tipo ureia através dos grupamentos R-amino (MARESCA et al., 2009). Essa estrutura compacta favorece uma rápida depuração da circulação sistêmica, resultando em uma alta razão entre captação tumoral e tecidos não-alvo, o que melhora significativamente a qualidade das imagens obtidas (EDER et al., 2012).

O composto Glu–NH–CO–NH–Lys(AHX)–HBED-CC (também descrito como PSMA-HBED-CC ou PSMA-11) um inibidor de PSMA baseado em ureia radiomarcado com ^{68}Ga , tem se destacado na prática clínica como uma ferramenta eficaz no diagnóstico do câncer de próstata. Essa molécula apresenta alta afinidade pelos receptores PSMA, demonstrando excelente sensibilidade e especificidade na detecção de tumores primários, recidivas e metástases, contribuindo para um diagnóstico mais preciso da doença (MAURER et al., 2016).

A ligação do quelante HBED-CC ao inibidor ocorre por meio do grupo ácido aminohexanoico (AHX), que conecta o quelante à estrutura ureia (Glu–ureia–Lys) (Kopka et al., 2017). Após a ligação ao receptor PSMA nas células tumorais, o composto é internalizado e acumulado nas células neoplásicas. Apesar de apresentar captação fisiológica em alguns tecidos não-alvo, como trato urinário, intestino delgado, fígado, baço e glândulas salivares, o radiotraçador possui rápido clareamento sanguíneo, o que reduz a interferência de fundo nas imagens. Como vantagem adicional, estruturas com maior propensão a metástases no câncer de próstata, como ossos, linfonodos e tecido retroperitoneal, apresentam baixa captação fisiológica, facilitando sua identificação (MAURER et al., 2016).

Atualmente, o PSMA-11- ^{68}Ga (Figura 3) é o radiofármaco mais amplamente utilizado para exames de PET no câncer de próstata. Sua aplicação permite a detecção precoce de lesões primárias e recorrentes, mesmo em volumes reduzidos, além de possibilitar o monitoramento da resposta terapêutica (MAURER et al., 2016).

Figura 3 - Estrutura química do PSMA-11 marcado com o radionuclídeo ^{68}Ga .



Radionuclídeo (^{68}Ga) + (quelante HBDE-CC) + fragmento de ligação (Glu-NH-CO-NH-Lys(Ahx))

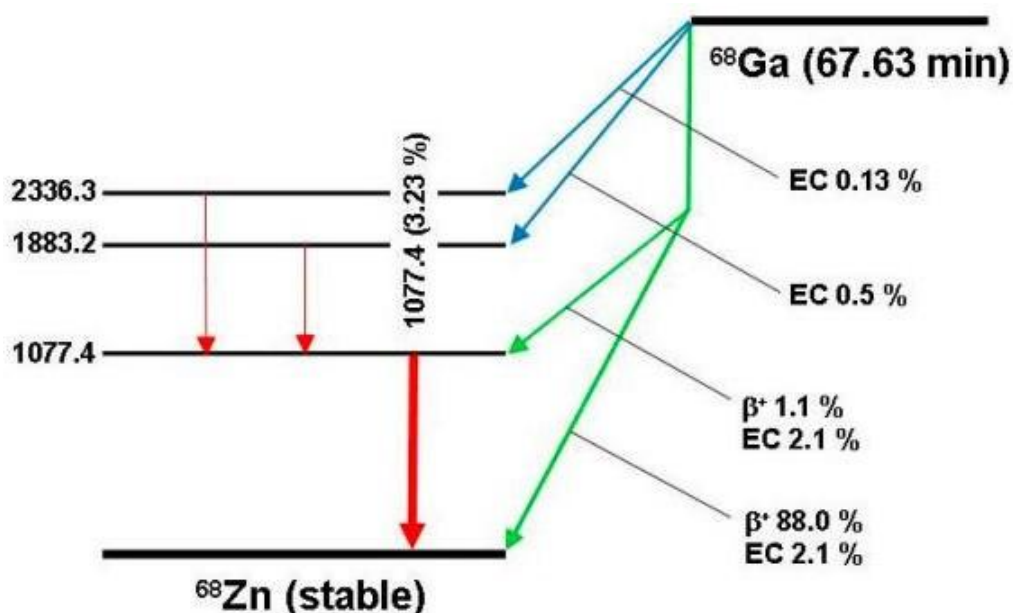
Fonte: Adaptado de (Hennrich e Eder).

3.8 Radionuclídeo para imagem: gálio-68

A formação de imagens em PET/CT requer radionuclídeos emissores de pósitrons, geralmente produzidos por ciclotrons. No entanto, o isótopo gálio-68 (^{68}Ga) apresenta uma vantagem logística significativa por poder ser obtido a partir de geradores de germânio-68/ ^{68}Ga ($^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$), que são sistemas compactos, de custo relativamente baixo e fácil operação (VELIKYAN, 2013).

O ^{68}Ga é um radionuclídeo emissor de pósitrons amplamente utilizado em exames de PET para fins diagnósticos, sendo considerado ideal para aplicações clínicas e pesquisas hospitalares (ASLANI et al., 2014). Suas propriedades físicas são particularmente vantajosas, com aproximadamente 89% de seu decaimento ocorrendo por emissão de pósitrons, associado a uma baixa emissão de fótons (1077 keV, 3,22%) e cerca de 11% por captura eletrônica (representado na Figura 4). Com meia-vida de 67,63 minutos, o ^{68}Ga permite a obtenção de imagens de alta qualidade em tempo adequado, ao mesmo tempo em que reduz a exposição à radiação para pacientes e profissionais envolvidos no seu manuseio (FREIRE, 2024).

Figura 4 - Esquema de decaimento de ^{68}Ga para ^{68}Zn estável.



Fonte: Adaptado de (BJØRNSTAD et al., 2013).

O Germânio-68 (^{68}Ge), radionuclídeo “pai”, é obtido em ciclotrons de alta energia por meio da reação nuclear $^{69}\text{Ga}(p,2n)^{68}\text{Ge}$, a partir do isótopo estável de gálio (^{69}Ga). O ^{68}Ge , possui uma meia-vida de aproximadamente 271 dias e decai por captura eletrônica. Uma vez produzido, o ^{68}Ge é fixado em uma coluna contendo matriz inorgânica, orgânica ou híbrida, onde decai espontaneamente para ^{68}Ga , o radionuclídeo “filho”. Este, por sua vez, pode ser eluído com uma solução apropriada e utilizado na marcação de radiofármacos. Após seu decaimento, o ^{68}Ga se transforma no isótopo estável Zinco-68 (^{68}Zn), de modo que os elementos germânio, gálio e zinco estão presentes no sistema gerador e podem ser detectados no eluato (VELIKYAN, 2015).

Graças ao equilíbrio secular entre os radionuclídeos pai e filho, o gerador pode ser eluído múltiplas vezes ao longo do dia. A cada hora, é possível recuperar cerca de 50% da atividade máxima disponível de ^{68}Ga , e após quatro horas, essa atividade pode ultrapassar 94% (VELIKYAN, 2013). Devido à meia-vida prolongada do ^{68}Ge , o gerador pode permanecer em uso por até um ano, a depender da atividade inicial. A eluição do radionuclídeo filho é realizada utilizando solução diluída de ácido clorídrico (HCl), geralmente entre 0,5 e 1,5 molar (RADIOISOTOPES, 2010).

O ^{68}Ga tem se mostrado altamente eficaz para marcação de pequenas moléculas, macromoléculas biológicas e nanoestruturas, contribuindo para a expansão das aplicações do PET. No contexto do câncer de próstata, sua associação a ligantes do PSMA permite não apenas a visualização de tumores com alta especificidade, como também a internalização do radiofármaco pela célula-alvo, devido à atividade enzimática do PSMA. Esse mecanismo o torna um radioalvo promissor tanto para diagnóstico quanto para fins terapêuticos (HÖVELS et al., 2008; RAMSAY et al., 2015).

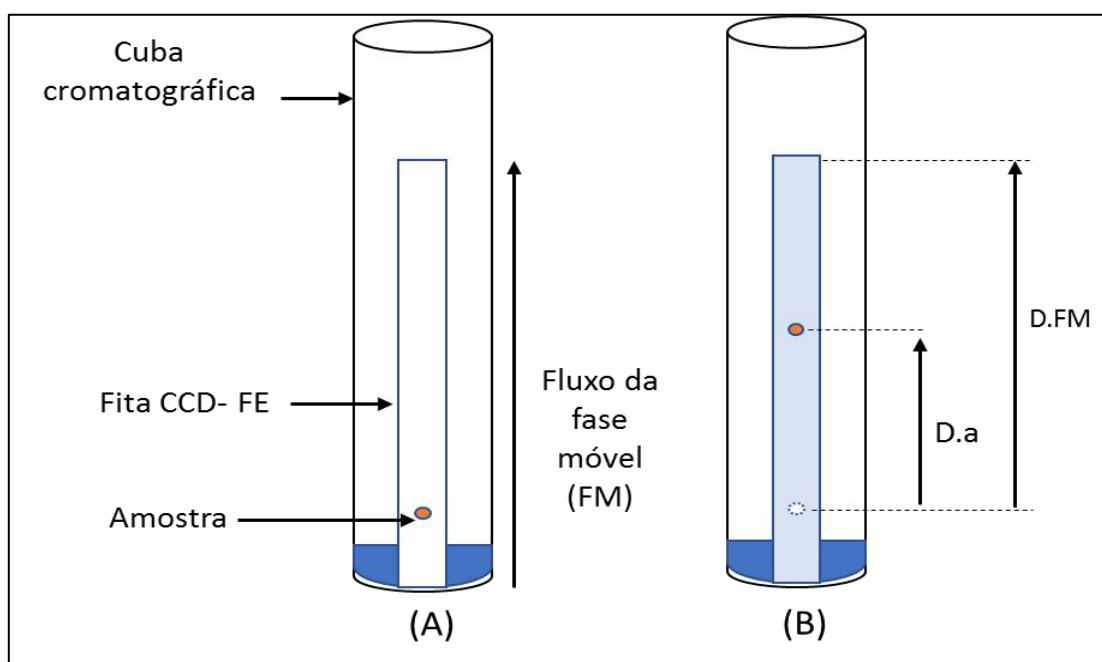
3.9 Técnica analítica - Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A cromatografia é uma técnica físico-química de separação baseada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, resultado das distintas interações entre duas fases imiscíveis: a fase móvel e a fase estacionária. A ampla variedade de combinações possíveis entre essas fases torna a cromatografia uma ferramenta extremamente versátil e amplamente utilizada em diversos campos da ciência (DEGANI et al., 1998). Existem diferentes modalidades cromatográficas, desde métodos simples, como a cromatografia em coluna (CC) e a cromatografia em camada delgada (CCD), até técnicas mais sofisticadas, como a cromatografia em líquido de alta eficiência (CLAE), que requer instrumentação complexa. Devido à sua elevada eficiência na separação, identificação e quantificação de substâncias químicas, mesmo em amostras de composição complexa, as técnicas cromatográficas ocupam posição de destaque nas análises químicas e bioquímicas (SCOTT, 2003).

Na cromatografia em camada delgada, a separação dos componentes ocorre sobre uma fina camada de material adsorvente, como sílica, alumina, celulose, poliamida, diatomita ou silicato de magnésio, que funciona como fase estacionária e é depositada sobre um suporte rígido, geralmente de vidro, alumínio ou plástico. Após a aplicação da amostra a poucos centímetros da base da placa, esta é colocada verticalmente em uma cuba cromatográfica contendo pequena quantidade de solvente, correspondente à fase móvel. A fase móvel sobe pela placa por ação capilar, promovendo a migração diferencial dos constituintes da amostra de acordo com suas diferentes afinidades com as fases estacionária e móvel (SANTOS, 2024).

Os solventes utilizados na cromatografia são classificados em diferentes grupos de seletividade, característica que influencia diretamente a capacidade do sistema em separar os compostos presentes na mistura. Essa seletividade está relacionada à afinidade do solvente com cada substância, determinando o grau de retenção em relação aos demais componentes (REN; NATSAGDORJ; SHUN, 2022). De acordo com sua natureza química, um composto pode interagir preferencialmente com a fase estacionária, permanecendo mais aderido a ela, ou ser conduzido mais rapidamente pela fase móvel durante a eluição. Um parâmetro importante na CCD é o fator de retenção (R_f), definido como a razão entre a distância percorrida pelo soluto (D.a) e a distância percorrida pela fase móvel (D.FM), como representado na Figura 5. O valor de R_f é característico de cada substância nas condições de análise e é amplamente utilizado para fins de identificação (BECKER, 1997).

Figura 5 - Esquema de cromatografia em camada delgada (CCD-SG).



Fonte: (SANTOS, 2024).

No contexto da radiofarmácia, as impurezas radioquímicas podem ser geradas por diversos fatores, como variações de temperatura e pH, exposição à luz, presença de agentes oxidantes ou redutores, reações incompletas ou ainda pela ação da radiólise. Para avaliação dessas impurezas, a cromatografia em camada delgada é amplamente empregada em radiofarmácias de medicina nuclear, por ser

uma técnica de baixo custo, fácil execução e eficaz na verificação da pureza radioquímica e da eficiência de marcação dos radiofármacos (SAHA, 2010).

3.10 Boas práticas de fabricação de radiofármacos

A fabricação de radiofármacos deve seguir rigorosamente as diretrizes estabelecidas nas Boas Práticas de Fabricação (BPF), conforme aplicadas tanto a medicamentos convencionais quanto a radiofármacos, segundo a RDC nº 658/2022 e a Instrução Normativa (IN) nº 128/2022 da Anvisa. As BPF fazem parte do sistema de Gerenciamento da Qualidade e têm como objetivo assegurar que os produtos sejam constantemente fabricados e controlados de acordo com padrões de qualidade compatíveis com seu uso pretendido, conforme estabelecido no registro sanitário, na autorização para uso em ensaios clínicos ou nas especificações do produto (RDC 658, 2022, Anvisa).

Essas práticas abrangem desde a produção até o controle de qualidade (CQ), e se aplicam a todas as etapas do ciclo de vida do radiofármaco. Sua implementação visa reduzir riscos não detectáveis na análise do produto final, como contaminação cruzada, presença de partículas ou comprometimento da qualidade microbiológica (BRASIL, 2022; WHO, 1996; BOTET, 2006).

Os produtos finais devem estar em conformidade com a composição qualitativa e quantitativa prevista no registro ou autorização de uso, sendo obrigatória a utilização de componentes com grau de pureza adequado, acondicionados em recipientes apropriados e devidamente rotulados (BRASIL, 2022).

No caso dos radiofármacos, a garantia da qualidade é ainda mais crítica devido às suas particularidades, como o curto tempo de meia-vida, os pequenos volumes manipulados e, em certos casos, a necessidade de administração do produto antes da finalização completa dos testes de liberação (BRASIL, 2022).

Cabe ao fabricante do radiofármaco final descrever e justificar todas as etapas envolvidas na fabricação da substância ativa e do medicamento, bem como avaliar a aplicabilidade das diretrizes gerais de boas práticas para medicamentos e/ou das diretrizes específicas para insumos farmacêuticos ativos às etapas de fabricação executadas.

3.11 Validação de método analítico

Um processo de validação bem estruturado e documentado fornece às agências reguladoras evidências objetivas de que os métodos analíticos e os sistemas de medição são apropriados para a finalidade a que se destinam. No contexto do registro de novos produtos, tanto no Brasil quanto em outros países, os órgãos regulatórios exigem a validação da metodologia analítica. Para atender a essa exigência, diversas autoridades sanitárias publicaram documentos oficiais que servem como diretrizes a serem seguidas durante o processo de validação (PEREZ, 2010).

O sucesso na validação depende de diversos fatores, como a qualificação dos profissionais envolvidos, o uso de equipamentos calibrados, a adequação do ambiente laboratorial e a utilização de padrões e reagentes de qualidade comprovada. A validação é obrigatória quando o método analítico for desenvolvido pelo próprio laboratório, não estando descrito em farmacopeias; também se aplica quando um método farmacopeico é utilizado fora do seu escopo original, ou quando é ampliado ou modificado. Além disso, o processo deve ser validado ou revalidado em situações como alterações no processo de fabricação, dúvidas quanto à qualidade do produto final, introdução de novos equipamentos ou implementação de métodos analíticos alternativos (RIBANI, 2004).

A rastreabilidade do estudo de validação deve ser garantida por meio de documentação detalhada de todas as etapas, desde o planejamento até os resultados obtidos. Essa documentação é composta pelo Plano Mestre de Validação, que define as atividades e os responsáveis técnicos, pelo Protocolo de Validação, que descreve a metodologia aplicada e pelo Relatório de Validação, que apresenta os resultados, os critérios de aceitação, as observações técnicas e a conclusão quanto à adequação do método (BARROS, 2002).

3.12 Parâmetros analíticos para validação de método

A RDC 166 de 2017 da Anvisa estabelece que a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Os parâmetros a serem avaliados dependem da aplicação analítica, conforme disposto na Tabela 1:

Tabela 1 - Parâmetros de validação estabelecidos pela Anvisa.

PARÂMETRO AVALIADO	IDENTIFICAÇÃO	TESTE DE IMPUREZAS		DOSEAMENTO -DISSOLUÇÃO (QUANTIFICAÇÃO) -UNIFORMIDADE DE CONTEÚDO -POTÊNCIA
		QUANTITATIVO	ENSAIO LIMITE	
EXATIDÃO	NÃO	SIM	NÃO	SIM
PRECISÃO REPETIBILIDADE	NÃO	SIM	NÃO	SIM
PRECISÃO INTERMEDIÁRIA	NÃO	SIM	NÃO	SIM
SELETIVIDADE	SIM	SIM	SIM	SIM
LIMITE DE DETECÇÃO	NÃO	NÃO	SIM	NÃO
LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO	NÃO	SIM	NÃO	NÃO
LINEARIDADE	NÃO	SIM	NÃO	SIM
INTERVALO	NÃO	SIM	NÃO	SIM

Fonte: Adaptado de (BRASIL, 2017).

A validação de métodos analíticos requer a avaliação de diversos parâmetros que asseguram a confiabilidade, especificidade e robustez do método. Um dos parâmetros fundamentais é a seletividade, que corresponde à capacidade do método em identificar ou quantificar, de forma inequívoca, o analito de interesse na presença de outros componentes da matriz, como impurezas, diluentes e produtos de degradação. Em métodos cromatográficos, é necessário demonstrar a pureza cromatográfica do sinal do analito, com exceção dos produtos biológicos. No caso específico de métodos utilizados para avaliar a pureza radioquímica, a seletividade deve ser comprovada mediante demonstração de que a resposta analítica se deve exclusivamente ao analito, sem interferência de substâncias adjacentes (BRASIL, 2017).

A exatidão é definida como o grau de concordância entre os resultados obtidos pelo método e um valor de referência aceito como verdadeiro. Para sua verificação, são necessárias no mínimo nove determinações, abrangendo três diferentes concentrações (baixa, média e alta), com três réplicas preparadas de forma independente em cada concentração. Tais concentrações devem estar contidas no intervalo linear do método (BRASIL, 2017).

A precisão do método pode ser expressa por meio de três abordagens: repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade. Esse parâmetro avalia a dispersão dos resultados obtidos em condições variadas e pode ser mensurado por meio da análise de padrões ou materiais de referência em diferentes níveis de concentração. A repetibilidade é determinada quando os ensaios são realizados sob as mesmas condições — mesmo analista, equipamentos e ambiente — em uma única sessão analítica. Já a precisão intermediária envolve a execução dos ensaios em diferentes dias, por analistas distintos e, preferencialmente, com equipamentos diversos, utilizando amostras preparadas independentemente (BRASIL, 2017).

A linearidade é demonstrada pela capacidade do método em gerar respostas diretamente proporcionais às concentrações do analito na amostra. Essa avaliação deve ser feita com, no mínimo, cinco diferentes concentrações, analisadas em triplicata e preparadas de forma independente, sendo aceitável a utilização de diluições sucessivas de uma mesma solução-mãe. A proximidade entre os valores obtidos e os valores teóricos é utilizada como critério de aceitação (BRASIL, 2017).

O intervalo analítico, também chamado de faixa de trabalho, é estabelecido com base nos estudos de linearidade, exatidão e precisão, e representa a amplitude de concentrações em que o método é considerado confiável. Seu objetivo é demonstrar que o método é adequado para detectar e quantificar o analito com precisão dentro dos limites estabelecidos (BRASIL, 2017).

O limite de detecção (LOD) corresponde à menor quantidade do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, nas condições experimentais utilizadas. Esse limite pode ser determinado por diferentes métodos, como inspeção visual, razão sinal-ruído, análise do branco ou parâmetros derivados da curva de calibração (BRASIL, 2017). Já o limite de quantificação (LOQ) refere-se à menor quantidade do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis, devendo estar em conformidade com o limite de especificação da impureza avaliada (BRASIL, 2017).

A robustez é um parâmetro geralmente avaliado durante o desenvolvimento do método e está relacionada à sua capacidade de permanecer estável diante de pequenas variações deliberadas nas condições analíticas. Essa propriedade oferece uma indicação da confiabilidade do método em condições rotineiras, como mudanças em reagentes, equipamentos ou operadores, que inevitavelmente ocorrem durante o processo produtivo (BRASIL, 2017).

O protocolo de validação deve apresentar detalhadamente a descrição das etapas a serem executadas, incluindo responsabilidades, equipamentos utilizados, tipo de validação, capacitação necessária, procedimentos analíticos, pontos críticos e critérios estatísticos para análise dos resultados. Qualquer desvio do protocolo original deve ser devidamente documentado, investigado e justificado (BRASIL, 2017).

Por fim, o relatório de validação deve conter a compilação de todos os resultados obtidos, os critérios de aceitação utilizados, os cálculos aplicados e o tratamento estatístico dos dados. Todos os registros brutos necessários à elaboração do relatório, bem como os dados experimentais, devem estar disponíveis para inspeções regulatórias (BRASIL, 2017).

4 MATERIALS

4.1 Infraestructura

Os experimentos de radiomarcagem e controle de qualidade foram conduzidos no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento do Centro de Radiofarmácia (CECRF), pertencente ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN).

4.2 Especificação da Amostra

Número DCB: (12550)

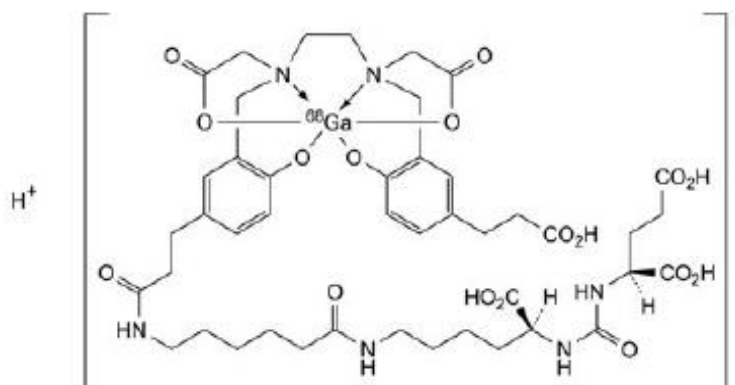
Nome DCB: gozetotida (68 Ga)

NOME QUÍMICO: 2-[[5-[3-[[6-[[[(5S)-5-carboxy-5-[[[(1S)-1,3-dicarboxypropyl]carbamoylamino]pentyl]amino]-6-oxohexyl]amino]-3-oxopropyl]-2-oxidophenyl]methyl]-2-[[5-(2-carboxyethyl)-2-oxidophenyl]methyl-(carboxylatomethyl)amino]ethyl]amino]acetate;gallium-68(3+);hydron
(PSMA-11)

CAS: 1906894-20-9

Fórmula estrutural:

Figura 6 - Fórmula estrutural do gozetotida (⁶⁸Ga).



Fonte: Farmacopeia Europeia, 11ªed.

Forma Farmacêutica: Solução injetável

Apresentação: 01 frasco-ampola de pó liofilizado para preparação de solução injetável, equivalente a 20µg de PSMA-11 e 01 frasco-ampola de solução tampão acetato de sódio 1,5M, pH 5,0.

Composição:

Tabela 2 - Composição dos frascos do kit de PSMA-11

Composição Frasco 1 - PSMA	Quantidade
PSMA-11	20 µg
manitol	20 mg
Composição Frasco 2 - Solução Tampão	Quantidade
acetato de sódio anidrido	0,1846 g
Água para injetáveis qsp	1,5 mL

Fonte: Autor

Indicação: Diagnóstico de câncer de próstata.

4.3 Reagente e soluções

Os principais reagentes e soluções utilizados neste trabalho foram:

- Acetato de amônio (Merck, Alemanha);
- Acetato de sódio anidrido (Merck, Alemanha);
- Ácido clorídrico (Merck, Alemanha);
- Ácido pentético (Merck, Alemanha);
- Água para injetável (Hypofarma, Brasil);
- Água purificada (Purificador Milli - XR, EUA);
- Cloreto de Ga-68 (Gerador $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ Eckert & Ziegler, Alemanha);
- Cloreto de sódio (Merck, Alemanha)
- Hidróxido de sódio em lentilhas (Merck, Alemanha);
- Metanol (Merck, Alemanha);
- Manitol (Merck, Alemanha);

- Peptídeo PSMA-11 (ABX - Advanced Biochemical Compounds - Alemanha);

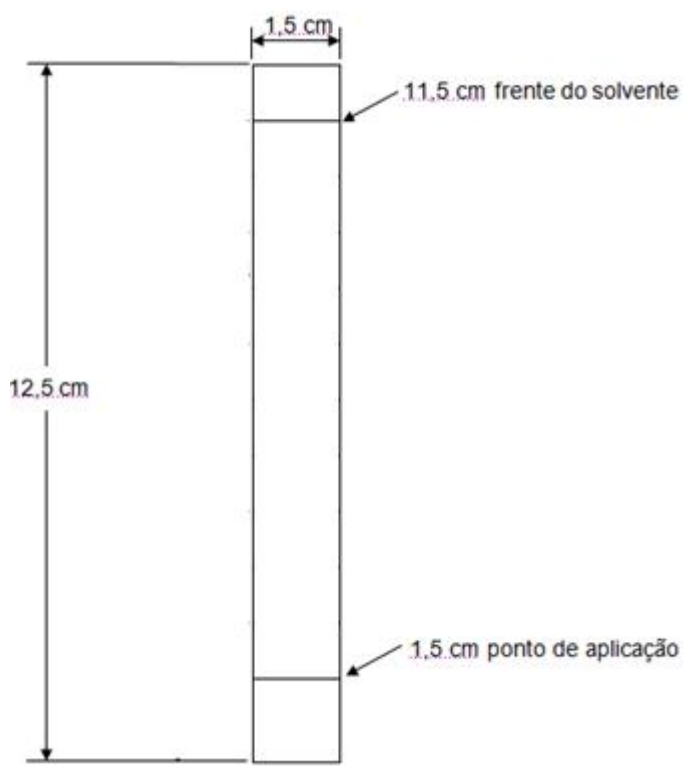
4.4 Equipamentos e materiais

Os seguintes materiais foram utilizados para a realização dos testes de controle de qualidade do radiofármaco PSMA-11-⁶⁸Ga:

- Agitador magnético com aquecimento 725^a (Fisatom, EUA);
- Amostras do radiofármaco PSMA-11-⁶⁸Ga;
- Balança analítica (Shimadzu, Japão);
- Calibrador de atividade (CRC-15R- Capintec®, EUA);
- Contador automático tipo poço com cristal NaI (TI) - D5002 Cobra II (Packard-Canberra, EUA);
- Contador automático tipo poço com cristal NaI (TI) (Hidex, Finlândia);
- Cubas de vidro com tampa (50 mm x 150 mm);
- Filtro esterilizante 0,22 µm Millex GV (Merck, Alemanha);
- Fita adesiva;
- Micropipetas automáticas de 10 µL, 100 µL e 1000 µL (Eppendorf, Brasil);
- pHmetro digital (Mettler Toledo, EUA);
- Pinça;
- Ponteiras descartáveis de 10 µL, 100 µL e 1000 µL;
- Régua;
- Statistica 14.00.15 – software para análise estatística dos dados (TIBCO® Data Science Workbench, TIBCO Software Inc., Estados Unidos);

- Suporte cromatográfico de fibra de vidro impregnada com sílica-gel (iTLC-SG) (Aligent, EUA) (Figura 7);
- Suporte cromatográfico de sílica gel 60 em placa de alumina (TLC-SG) (Merck, Alemanha);
- Tesoura;
- Tiras indicadoras de pH (Merck, Alemanha);
- Vidrarias em geral, como balões volumétricos, béqueres, erlenmeyeres e provetas;

Figura 7 - Fita cromatográfica de Fibra de vidro impregnada com sílica-gel (iTLC-SG).



Fonte: IPEN

5 MÉTODOS

5.1 Radiomarcção

O kit de PSMA-11 para pronta marcação com galio-68 (1 frasco liofilizado contendo 20 µg de PSMA-11 e 20 mg de manitol e 1 frasco contendo 1,5 mL de solução tampão acetato de sódio 1,5M pH 5,0) foi desenvolvido no Centro de Radiofarmácia do IPEN. A radiomarcção do kit de PSMA-11 com gálio-68 foi realizada conforme descrito a seguir:

- Ao frasco liofilizado contendo 20 µg de PSMA-11 e 20 mg de manitol, adicionar com auxílio de seringa descartável estéril, 1,0 mL da solução tampão acetato de sódio 1,5 M pH 5,0 e agitar suavemente para completa dissolução;
- Em seguida, adicionar de 2,5 a 5,0 mL da solução de cloreto de ^{68}Ga eluída do Gerador de ^{68}Ge - ^{68}Ga com atividade conhecida, determinada em calibrador de atividade (Capintec, EUA).
 - Concentração radioativa: 74 a 222 MBq/mg (2 a 6 mCi/ mL);
 - Atividade Específica: 9,25 a 55,5 MBq/µg do peptídeo (0,5 a 1,5 mCi/µg do peptídeo), considerando a faixa de atividade de marcação (185 a 1110 MBq);
- Incubar a mistura de reação à temperatura ambiente por 10 minutos;
- pH final da solução: 4,5.

A metodologia validada utilizou a técnica de cromatografia em camada delgada e corresponde ao ensaio descrito na Farmacopeia Europeia 2023 (11^a ed.) para determinação da impureza radioquímica. A Farmacopeia Europeia descreve as técnicas de CCD e CLAE para determinação da pureza radioquímica, mas este trabalho validou apenas a técnica de CCD.

5.2 Preparo da bancada de trabalho

A bancada foi preparada e forrada com papel absorvente, a fim de prevenir contaminações por material radioativo. Em seguida, foram separados os materiais necessários, incluindo cubas de vidro e tampas com suporte para as fitas cromatográficas, todas devidamente identificadas conforme o ensaio a ser realizado.

5.3 Preparo das soluções

5.3.1 Preparo da fase móvel

- Preparo da Solução de acetato de amônio 77g/L:

Foi preparada uma solução de acetato de amônio, pesando-se 38,5 g de acetato de amônio e dissolvendo em cerca de 250 mL de água purificada em balão volumétrico. A solução foi homogeneizada lentamente e, em seguida, o volume foi completado para 500 mL com água purificada.

- Preparo da fase móvel: Solução de acetato de amônio 77g/L:metanol (50:50 V/V):

Foi preparada uma mistura adicionando volumes iguais da solução de acetato de amônio 77 g/L e de metanol. A mistura foi homogeneizada lentamente para assegurar a completa miscibilidade dos componentes.

5.3.2 Preparo da cuba - saturação do ambiente

Aproximadamente 30 minutos antes do início do ensaio, procedeu-se à adição da fase móvel na cuba cromatográfica.

Utilizando-se uma pipeta Pasteur, foram transferidos aproximadamente 3 mL da fase móvel para o interior da cuba.

Após a adição, a cuba foi imediatamente fechada para evitar a evaporação da fase móvel.

O nível da fase móvel foi cuidadosamente controlado para não ultrapassar o ponto de aplicação da amostra na fita cromatográfica.

5.3.3 Preparo da amostra radioativa

O frasco contendo a amostra a ser analisada foi retirado da blindagem de chumbo. Em seguida, colocou-se no calibrador de atividade e a atividade encontrada foi registrada. Após essa medição, o frasco da amostra retornou para a blindagem de chumbo. Então, foi realizada a diluição da amostra com cloreto de sódio (NaCl 0,9%) para que se obtivesse cerca de 37MBq/mL (1,0 mCi/mL). Finalmente, a atividade desta solução foi medida e o valor encontrado foi registrado.

5.3.4 Preparo da Solução de Referência (Ga-68)

- Preparo da Solução de referência (a): Inicialmente, a solução de cloreto de gálio (Ga-68) para radiomarcagem foi ajustada para pH $1,0 \pm 0,2$. Esse ajuste foi realizado utilizando ácido clorídrico diluído ou diluindo-se com água purificada.
- Preparo da Solução de referência (b): Em seguida, adicionou-se 1 mL da solução de referência (a) a 1 mL de uma solução contendo 4 g/L de hidróxido de sódio e 10 g/L de ácido pentético. Essa solução de referência (b) foi utilizada em até 30 minutos.

5.4 Ensaio

5.4.1 Análise

A fita cromatográfica passou por um processo de ativação em estufa, sendo mantida a uma temperatura de 60 °C por aproximadamente 30 minutos. Transcorrido esse período, aguardou-se até que a fita atingisse a temperatura ambiente.

Na sequência, utilizando uma micropipeta automática calibrada, semeou-se precisamente uma amostra de 5 µL no centro da marca de origem da fita cromatográfica (Figura 7). A aplicação da amostra ocorreu exatamente sobre a linha demarcada, posicionada a 1,5 cm acima da borda inferior da fita, uma precaução essencial para evitar que a amostra ficasse submersa no solvente ao inserir a fita na cuba cromatográfica.

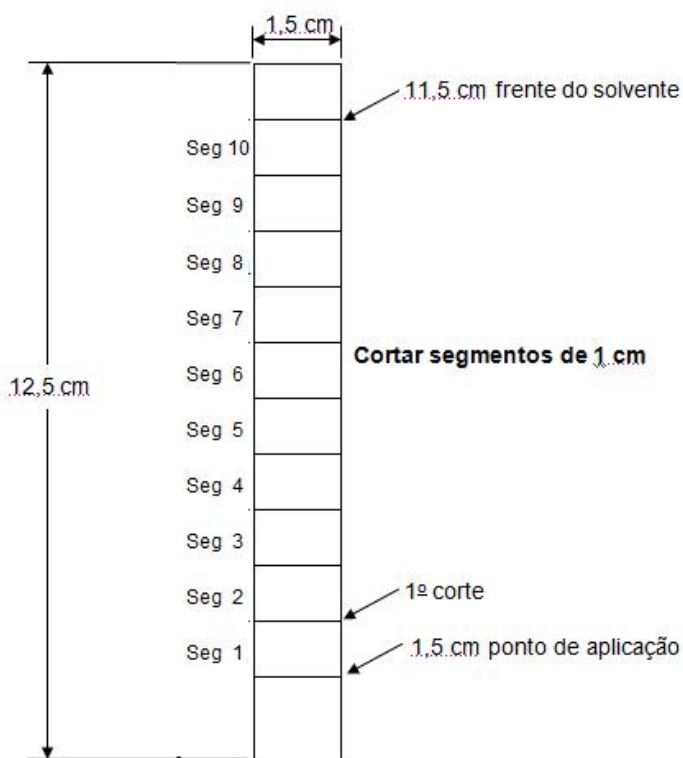
Posteriormente, a fase móvel (acetato de amônio 77g/L:metanol) ascendeu pela fita (iTLC-SG) por capilaridade, um processo que ocorreu de forma natural, sem qualquer agitação ou interferência externa. A ascensão do solvente foi monitorada até que seu nível atingisse a marca superior predefinida na fita cromatográfica.

Concluída essa etapa, a fita foi cuidadosamente retirada da cuba e transferida para uma estufa, onde ocorreu o processo de secagem a uma temperatura de cerca de 60 °C. Finalmente, após a completa secagem, a fita foi encapada com fita adesiva para sua preservação e análise posterior.

5.4.2 Leitura da radioatividade

Após a etapa de secagem e encapamento, a fita cromatográfica foi cuidadosamente cortada em segmentos de 1 cm, seguindo as marcações previamente indicadas (Figura 8). Cada um desses segmentos resultantes foi então transferido individualmente para um tubo de plástico. Em seguida, esses tubos contendo os segmentos da fita foram dispostos sequencialmente (do segmento 1 ao 10) na estante de contagem de radioatividade do contador gama Cobra II, onde a leitura das contagens por minuto (cpm) foi realizada na faixa de energia especificada de 300 – 1200 KeV.

Figura 8 - Indicação do corte da fita cromatográfica iTLC-SG.



Fonte: IPEN

5.4.3 Cálculo

Calculou-se a porcentagem da impureza radioquímica através do cálculo:

$$\%Impureza = \frac{\Sigma(Seg_1 - Seg_2)}{\Sigma(Seg_1, Seg_2, \dots, Seg_{10})} \times 100$$

Onde:

%Impureza = percentual de impureza radioquímica ($^{68}\text{Ga}^{+3}$)

Σ Seg 1-2 = somatória da contagem por minuto correspondente ao segmento 1 e segmento 2 da fita cromatográfica.

Σ Seg 1-10 = somatória da contagem total (contagem por minuto correspondente ao total da fita cromatográfica - segmento 1 ao 10).

- Fator de retenção do produto marcado (^{68}Ga -PSMA-11) – $R_f = 0,8 - 1,0$
- Fato de retenção da impureza ($^{68}\text{Ga}^{+3}$) – $R_f = 0,1$ e $0,2$

Verificação de sistema (System Suitability): O fator de retenção do pico principal do cromatograma obtido com a solução de referência (a) não foi maior que 0,1; o fator de retenção do pico principal do cromatograma obtido com a solução de referencia (b) foi maior que 0,7.

Critério de aceitação: Não mais que 3% do total da radioatividade é devido a espécies de gálio-68 com fator de retenção menor que 0,2.

6 PARÂMETROS ANALÍTICOS PARA A VALIDAÇÃO DO MÉTODO

Considerações importantes sobre o produto: por se tratar de um produto radioativo preparado no momento do uso, não há padrões de referência disponíveis, portanto nos ensaios foram desafiados apenas as preparações com amostras do produto PSMA-11-⁶⁸Ga.

Foi realizado o ensaio de (*System Suitability*), para a solução de referência (a) e (b).

6.1 Repetibilidade e precisão intermediária

6.1.1 Repetibilidade

O objetivo do ensaio da repetibilidade foi avaliar a concordância entre os resultados dentro de um curto intervalo de tempo sob mesmas condições.

A repetibilidade do método foi verificada em seis determinações (preparos) a 100% da concentração da amostra.

Este ensaio foi realizado pelo analista 1 utilizando a amostra de ⁶⁸Ga-PSMA-11 com concentração radioativa de 37MBq/mL (1mCi/mL). A Tabela 3 demonstra os componentes e soluções para obtenção da amostra em concentração radioativa de 37 MBq/mL.

Os critérios de aceitação para os ensaios de repetibilidade e precisão foram: impureza radioquímica $\leq 3\%$ e desvio padrão relativo $\leq 25\%$.

Tabela 3 - Componentes e volumes das soluções para preparo de amostra de ⁶⁸Ga-PSMA 11 para repetibilidade.

Volume ⁶⁸ Ga-PSMA-11 (μ L)	Volume NaCl 0,9% (μ L)	Volume Total (μ L)	Atividade solução MBq (mCi)	Concentração radioativa MBq/mL (mCi/mL)
670	330	1000	37,0 (1,0)	37,0 (1,0)

Fonte: Autor

6.1.2 Precisão Intermediária

No ensaio de precisão intermediária, mantiveram-se todas as condições utilizadas no ensaio de repetibilidade, sendo que o procedimento foi realizado pelo analista 2 no mesmo dia, a fim de evitar o decaimento da atividade da amostra.

Os critérios de aceitação para os ensaios da precisão intermediária foram: impureza radioquímica $\leq 3\%$ e desvio padrão relativo $\leq 25\%$.

Os resultados das contagens estão relacionados em resultados e discussão.

O desvio padrão foi obtido pela Equação 1 e o desvio padrão relativo pela Equação 2.

- Cálculo do Desvio padrão (Equação 1)

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

Onde:

L = Leitura

M = Média das leituras

n = representa o número total de leituras

DP = Desvio padrão

- Cálculo do Desvio padrão relativo (Equação 2)

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

Onde:

DP = Desvio padrão

MD = Média das leituras

6.2 Seletividade

O teste de seletividade foi realizado avaliando se a presença de impurezas e excipientes alteram o fator de retenção (R_f) do produto. Foram preparadas soluções independentes do produto (^{68}Ga -PSMA-11) e da impureza ($^{68}\text{GaCl}_3$) com e sem adição do excipiente (manitol 100 mg/mL), conforme a Tabela 4. As análises foram realizadas em triplicata. A Tabela 4 demonstra as concentrações dos componentes de cada solução.

6.2.1 Preparo das amostras para ensaio da seletividade

6.2.1.1 Preparo da Amostra do produto (^{68}Ga -PSMA-11)

Foi realizada a radiomarcagem do ^{68}Ga -PSMA-11 seguindo os parâmetros definidos pelo protocolo de radiomarcagem. Em seguida, o produto foi diluído com cloreto de sódio 0,9% a fim de obtê-lo em concentração radioativa de 37 MBq/mL (1 mCi/mL).

6.2.1.2 Preparo da Amostra da matéria-prima radioativa ($^{68}\text{GaCl}_3$)

Utilizou-se $^{68}\text{GaCl}_3$ com atividade de 259 MBq (7 mCi) em volume de 2,5 mL para preparo da amostra que foi utilizada no ensaio. Utilizou-se 1 mL da solução a qual representa a impureza radioquímica de ^{68}Ga -PSMA-11.

6.2.1.3 Amostra do excipiente (manitol)

Com o auxílio de balança analítica, foram pesados 25 mg de manitol. Em seguida, o soluto foi dissolvido em 150 μL de água purificada. A solução foi homogeneizada lentamente e, posteriormente, o volume foi completado para 250 μL com água purificada.

Tabela 4 - Componentes das soluções utilizadas no ensaio da seletividade.

Solução	^{68}Ga-PSMA-11	Solução $^{68}\text{GaCl}_3$	Solução de Manitol 100 mg/mL
Solução teste 1	0,1 mL	Não	Não
Solução teste 2	Não	0,1 mL	Não
Solução teste 3	0,1 mL	0,1 mL	Não
Solução teste 4	0,1 mL	Não	20 μL
Solução teste 5	Não	0,1	20 μL

Fonte: Autor

As soluções teste foram preparadas conforme descrito na Tabela 5, de forma que todas apresentaram volume final de 1,0 mL, com atividade variando de (122 a 451 μCi).

Tabela 5: Soluções com os respectivos volumes e atividades utilizadas no ensaio de seletividade.

Experimento	Volume PSMA-11-^{68}Ga (μL)	Volume $^{68}\text{GaCl}_3$ (μL)	Volume manitol (μL)	Volume NaCl 0,9% (μL)	Volume total (μL)	Atividade solução MBq (μCi)
S1	100	-	-	900	1000	4,5 (122)
S2	-	100	-	900	1000	9,0 (245)
S3	100	100	-	800	1000	15,3 (451)
S4	100	-	20	880	1000	5,1 (138)
S5	-	100	20	880	1000	9,0 (244)

Fonte: Autor

No ensaio de seletividade, o critério de aceitação foi a verificação da separação entre o fator de retenção (R_f) do produto e das impurezas pelo método cromatográfico.

O Rf ou fator de retenção relaciona a posição de um dado componente em relação à distância percorrida pela fase móvel da corrida cromatográfica e é calculado pela Equação 3. É um valor adimensional.

$$R_f = \frac{dr}{dm} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

dr = Distância percorrida pela substância de interesse

dm = Distância percorrida pela frente da fase móvel

6.3 Robustez

A robustez é definida como a medida da capacidade de um método em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos, indicando sua confiança durante o uso normal. No método cromatográfico a proposta para desafiar o método foi de variar a concentração radioativa da amostra, o volume aplicado na fita cromatográfica e a fase estacionária, conforme os experimentos apresentados na Tabela 6.

A combinação dessas três variáveis, correlacionando duas de cada vez, resultou em 8 experimentos, cada um realizado em triplicata. A randomização dos experimentos foi realizada com o programa Statistica. O critério de aceitação estabelecido para o ensaio de robustez é $DPR \leq 25,0\%$.

Utilizou-se ^{68}Ga -PSMA-11 com atividade de 248 MBq (6,7 mCi) em 2,5 mL para preparo das soluções utilizadas no ensaio. Foram realizadas diluições para obtenção das amostras de ^{68}Ga -PSMA-11 em concentrações radioativas de 44 MBq/mL e 18,5 MBq/mL (1,2 e 0,5 mCi/mL). A Tabela 6 mostra o preparo e diluições do ^{68}Ga -PSMA-11 utilizadas no ensaio da robustez.

Tabela 6: Parâmetros analíticos (variáveis) utilizados no ensaio da robustez.

Condição		Variável	
1	Concentração radioativa	44 MBq/mL 1,2 mCi/mL (A)	18,5 MBq/mL 0,5 mCi/mL (a)
2	Volume da amostra	5 µL (B)	2 µL (b)
3	Fase estacionária	ITLC-SG (C)	TLC-SG (c)

Combinação das variáveis				
Variáveis	1	2	3	Resultados
Experimentos	a	b	c	R1
	a	b	C	R2
	a	B	c	R3
	A	b	c	R4
	A	B	C	R5
	A	b	C	R6
	A	B	c	R7
	a	B	C	R8

Fonte: Autor

As condições de preparo das amostras empregadas no ensaio de robustez encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7 - Preparo e diluições de ⁶⁸Ga-PSMA-11 para ensaio de robustez.

Volume ⁶⁸ Ga - PSMA-11 (µL)	Volume NaCl 0,9% (µL)	Volume total (µL)	Atividade solução (µL)	Concentração radioativa MBq/ mL (mCi/mL)
420	580	1000	506	18,5 (0,5)
705	295	1000	1207	44,4 (1,2)

Fonte: Autor

O critério de aceitação estabelecido para o ensaio de robustez foi desvio padrão relativo $\leq 25,0\%$.

6.4 Linearidade

O ensaio da linearidade consiste em analisar a capacidade do método em obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração do analito. A curva analítica foi construída a partir da impureza (cloreto de gálio-68), por meio da preparação de seis soluções com diferentes concentrações de radioatividade. As concentrações radioativas utilizadas foram: 3%, 10%, 50%, 80%, 100% e 120%.

A curva analítica foi construída a partir da impureza ($^{68}\text{GaCl}_3$), por meio da preparação de seis soluções com diferentes concentrações de radioatividade, conforme apresentado na Tabela 8.

O ensaio foi conduzido com o auxílio do contador gama Hidex. Esse equipamento permite a normalização das contagens com base no horário da leitura do primeiro segmento, fator essencial devido à curta meia-vida do ^{68}Ga e à consequente variação temporal na atividade. Após a normalização automática realizada pelo aparelho, procedeu-se à correção manual das contagens com base no fator de decaimento, considerando-se o intervalo entre a realização da diluição das amostras e o início das leituras no equipamento. Os dados com as contagens encontram-se na parte de resultados e discussão.

Para avaliação da linearidade, foram apresentados os seguintes dados: representação gráfica das respostas em função da concentração do analito; avaliação da associação linear entre as variáveis por meio dos coeficientes de correlação (r) e de determinação (r^2); e avaliação da significância do coeficiente angular.

A homocedasticidade dos dados deve ser investigada para a utilização do modelo adequado. Nos testes estatísticos, deve ser utilizado um nível de significância de 5 % (cinco por cento).

Os critérios de aceitação para este ensaio foram: os resultados da contagem de cada amostra preparada deve ser diretamente proporcional à concentração do analito presente em cada preparação; o coeficiente angular deve ser significativamente diferente de zero e o coeficiente de correlação deve estar acima de 0,990.

Tabela 8 - Preparo das soluções para teste de linearidade

Preparo	Diluições					
	1	2	3	4	5	6
	1,11 MBq/mL 0,03 mCi/mL (3%)	3,7 MBq/mL 0,1 mCi/mL (10%)	18,5 MBq/mL 0,50 mCi/mL (50%)	29,6 MBq/mL 0,8 mCi/mL (80%)	37 MBq/mL 1 mCi/mL (100%)	44,4 MBq/mL 1,2 mCi/mL (120%)
Produto ⁶⁸Ga-PSMA-11 (µL)	300	120	500	680	710	860
Cloreto de sódio 0,9% (µL)	700	880	500	320	290	140

Fonte: Autor

7 RESULTADOS E DISCUSSÕES

7.1 Repetibilidade e precisão intermediária

Para avaliar a repetibilidade, foi preparada uma solução do radiofármaco ^{68}Ga -PSMA-11, com atividade de 37 MBq/mL (1 mCi/mL). Foram realizadas 6 corridas cromatográficas com a solução. A impureza radioquímica de cada amostra foi analisada por cromatografia, e o desvio padrão relativo (DPR) dos resultados foi calculado. A precisão intermediária foi avaliada de maneira semelhante, mas a análise da impureza foi realizada por um segundo analista (analista 2). Os resultados da repetibilidade e da precisão intermediária podem ser visualizados nas Tabelas 9 e 10, respectivamente. O resultado com os dados comparativos dos ensaios de repetibilidade e precisão intermediária podem ser visualizados na Figura 9.

Tabela 9 - Resultados das contagens (cpm) do ensaio de repetibilidade.

Segmentos	Fita 1 (cpm)	Fita 2 (cpm)	Fita 3 (cpm)	Fita 4 (cpm)	Fita 5 (cpm)	Fita 6 (cpm)
1	8281	8122	7164	6456	5872	7664
2	2506	1614	1531	1481	1756	1597
3	2222	2214	1847	1956	1747	1931
4	2664	3356	2647	2181	3456	2614
5	2239	4022	3339	2556	3131	3114
6	2881	11147	3381	3672	3472	5922
7	6739	30764	6347	9297	6489	14789
8	20381	57614	17281	23072	18331	37081
9	64547	152839	86714	65731	75047	97606
10	1640698	1236714	1439464	1391464	1354648	1216098
IRQ (%)	0,62	0,65	0,55	0,53	0,52	0,67
M	0,59					
DP	0,055					
DPR	9,36					

IRQ: Impureza radioquímica; M: média dos resultados; DP: desvio padrão;
DPR: desvio padrão relativo

Fonte: autor

Tabela 10 - Resultados das contagens (cpm) do ensaio de precisão intermediária.

Segmentos	Replicata 1 (cpm)	Replicata 2 (cpm)	Replicata 3 (cpm)	Replicata 4 (cpm)	Replicata 5 (cpm)	Replicata 6 (cpm)
1	6122	5089	6114	5531	4756	6289
2	1081	1214	2089	1772	3147	764
3	1356	1256	1097	1422	2272	822
4	1814	1831	1847	1572	2206	1322
5	2006	1781	2222	1664	2272	1781
6	3389	2531	2614	1539	3914	2531
7	4497	4322	3347	2606	5656	4031
8	10356	8272	7472	3706	14864	7197
9	31222	187189	21272	6939	109131	27722
10	828981	916239	958248	930948	796631	892214
IRQ (%)	0,81	0,56	0,82	0,76	0,84	0,75
M	0,75					
DP	0,068					
DPR	9,04					

IRQ: Impureza radioquímica; M: média dos resultados; DP: desvio padrão; DPR: desvio padrão relativo.

Fonte: Autor

A análise dos dados nas tabelas 9 e 10 revela que os valores de Impureza Radioquímica (IRQ) atenderam aos critérios de aceitação tanto para o teste de repetibilidade quanto para o de precisão intermediária. As médias de IRQ foram de 0,59% para o analista 1 (DP = 0,055) e de 0,75% para o analista 2 (DP = 0,068). O Desvio Padrão Relativo (DPR) entre os resultados dos dois analistas ficou abaixo de 25%, confirmando a repetibilidade do ensaio e a ausência de um desvio significativo decorrente da mudança de analista. Os resultados podem ser visualizados nas Tabelas 11 e 12 e nas Figura 9 e 10.

Tabela 11: Resultados do ensaio da repetibilidade do ⁶⁸Ga-PSMA-11.

Repetibilidade		
Impureza radioquímica (%)	Analista 1	Analista 2
	0,62	0,81
	0,65	0,56
	0,55	0,82
	0,53	0,76
	0,52	0,84
	0,67	0,75
M	0,59	0,75

DP	0,055	0,068
DPR	9,36	9,04

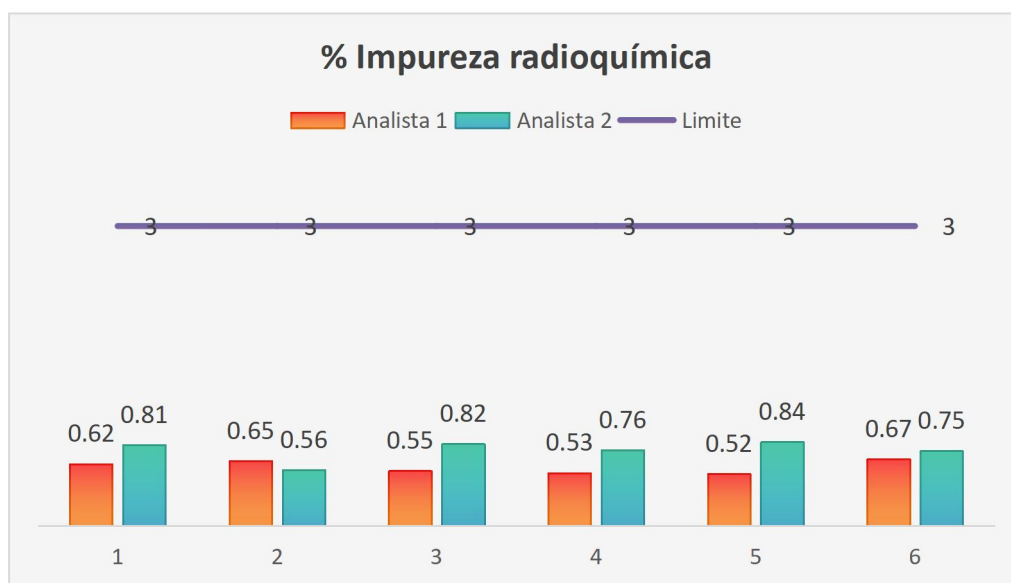
M: média dos resultados; DP: desvio padrão; DPR: desvio padrão relativo.
Fonte: autor

Tabela 12 - Resultados do ensaio da precisão intermediária do ^{68}Ga -PSMA-11.

Precisão intermediária		
Analista	% Impureza radioquímica - Média	DPR
1	0,59	12,4
2	0,75	
Média	0,67	
DP	0,083	

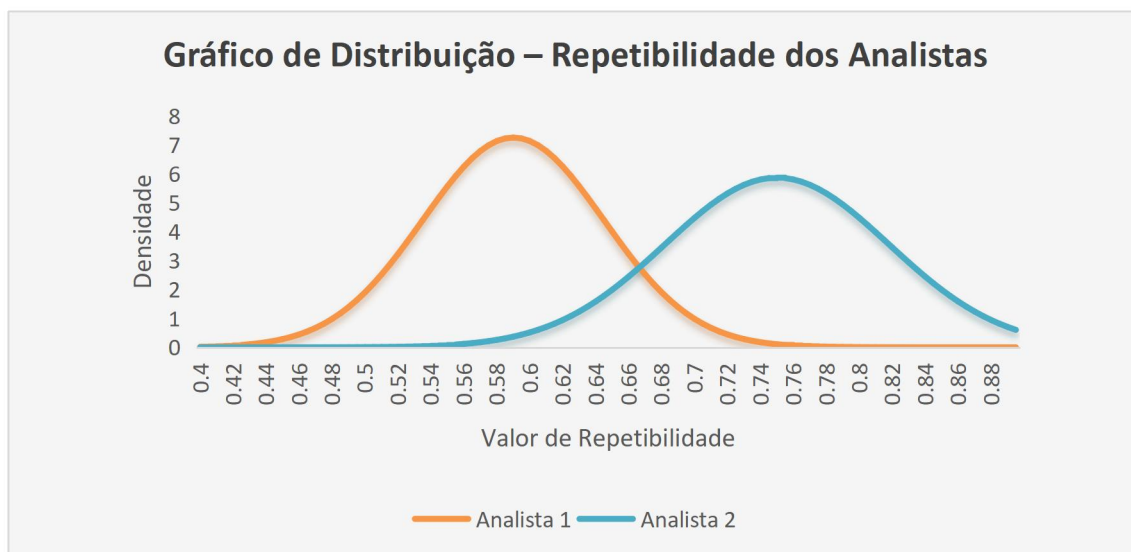
M: média dos resultados; DP: desvio padrão; DPR: desvio padrão relativo.
Fonte: Autor

Figura 9 - Gráfico dos testes de repetibilidade e precisão intermediária



Fonte: Autor

Figura 10 - Análise gráfica da distribuição dos testes de repetibilidade e precisão intermediária.



Fonte: Autor

7.2 Seletividade

Com o objetivo de avaliar a seletividade, foram analisadas 5 soluções teste. Nessas análises, investigou-se o fator de retenção do produto (^{68}Ga -PSMA-11) e da impureza ($^{68}\text{GaCl}_3$) quando havia um excesso do excipiente (manitol).

Especificamente, a solução teste 1 continha o produto radiomarcado com uma concentração de 37 MBq/mL (1 mCi/mL). Uma amostra de 5 μL dessa solução foi aplicada em uma fita cromatográfica e, posteriormente, submetida à separação cromatográfica, seguindo o perfil demonstrado na Tabela 13 e Figura 11.

Com base no perfil cromatográfico observado, o fator de retenção (R_f) do produto foi determinado como 0,8 -1,0.

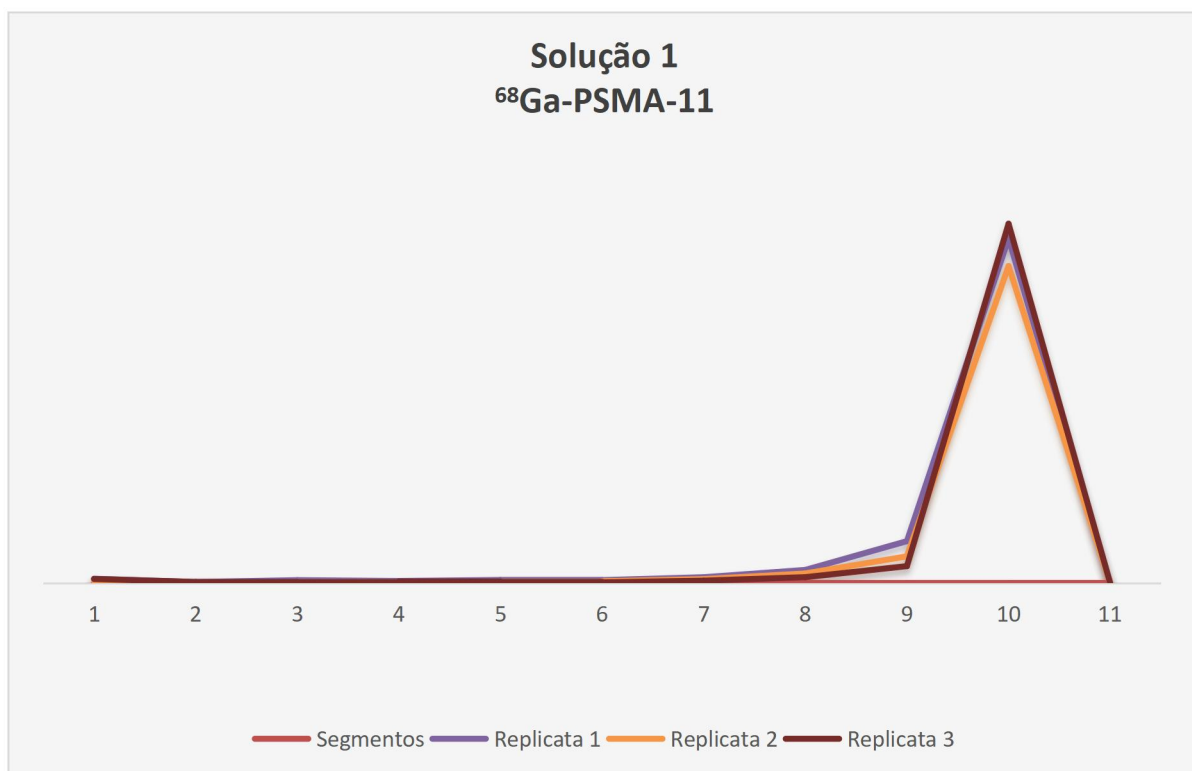
Tabela 13 - Perfil cromatográfico do produto ^{68}Ga -PSMA-11.

Solução 1 (^{68}Ga -PSMA-11)			
Segmento	Fita 1 (cpm)	Fita 2 (cpm)	Fita 3 (cpm)
1	341 (1,02%)	171 (0,59%)	326 (1,05%)

2	81 (0,24%)	61 (0,21%)	86 (0,28%)
3	231 (0,69%)	76 (0,26%)	76 (0,24%)
4	166 (0,50%)	81 (0,28%)	126 (0,41%)
5	246 (0,74%)	116 (0,40%)	96 (0,31%)
6	231 (0,69%)	146 (0,51%)	56 (0,18%)
7	461 (1,38%)	311 (1,08%)	191 (0,61%)
8	1036 (3,11%)	756 (2,62%)	466 (1,50%)
9	3306 (9,93%)	2111 (7,32%)	1336 (4,30%)
10	27191 (81,68%)	25011 (86,72%)	28341 (91,13%)
⁶⁸Ga-PSMA-11	31533 (94,72%)	27878 (96,66%)	30143 (96,92%)

Fonte: Autor

Figura 11 - Cromatograma do produto ⁶⁸Ga-PSMA-11.



Fonte: Autor

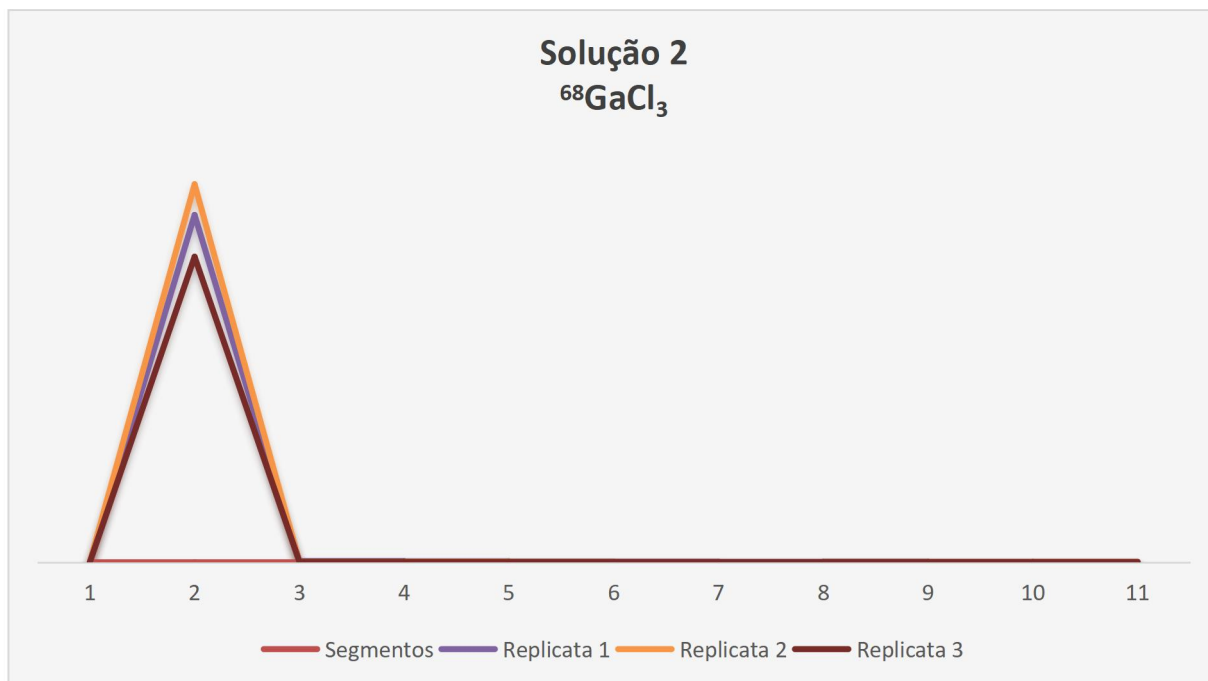
A solução teste 2 continha cloreto de gálio-68 livre (a impureza) em uma concentração de 74MBq/ mL (2 mCi/mL). Similarmente à solução teste 1, uma amostra de 5 µL foi aplicada na fita cromatográfica e submetida à separação cromatográfica, cujo perfil é apresentado na Tabela 14 e Figura 12.

A análise do teste permitiu determinar que o fator de retenção (Rf) do cloreto de gálio situa-se na faixa de 0,1 a 0,2.

Tabela 14 - Perfil cromatográfico da impureza $^{68}\text{GaCl}_3$.

Solução 2 ($^{68}\text{GaCl}_3$)			
Segmento	Fita 1 (cpm)	Fita 2 (cpm)	Fita 3 (cpm)
1	104706 (98,43%)	113961 (99,08%)	92106 (98,81%)
2	381 (0,35%)	191 (0,16%)	161 (0,17%)
3	301 (0,28%)	206 (0,17%)	121 (0,12%)
4	226 (0,21%)	121 (0,1%)	121 (0,12%)
5	186 (0,17%)	81 (0,07%)	91 (0,09%)
6	116 (0,1%)	61 (0,05%)	71 (0,07%)
7	91 (0,08%)	66 (0,05%)	141 (0,15%)
8	96 (0,09%)	101 (0,08%)	91 (0,09%)
9	86 (0,08%)	111 (0,09%)	106 (0,11%)
10	186 (0,17%)	111 (0,09%)	201 (0,21%)
$^{68}\text{GaCl}_3$	105087 (98,78%)	114152 (99,24%)	92267 (98,98%)

Fonte: Autor

Figura 12 - Cromatograma da impureza $^{68}\text{GaCl}_3$.

Fonte: Autor

A solução teste 3 foi elaborada para investigar se a combinação do produto e da impureza poderia influenciar seus perfis cromatográficos individuais. Para isso, essa solução consistiu em uma mistura de 100 μL do produto (concentração de 1 mCi/mL) e 100 μL da impureza (concentração de 2 mCi/mL). Uma amostra de 5 μL dessa mistura foi então aplicada na fita cromatográfica e submetida à separação cromatográfica, com os resultados exibidos na Tabela 15 e Figura 13.

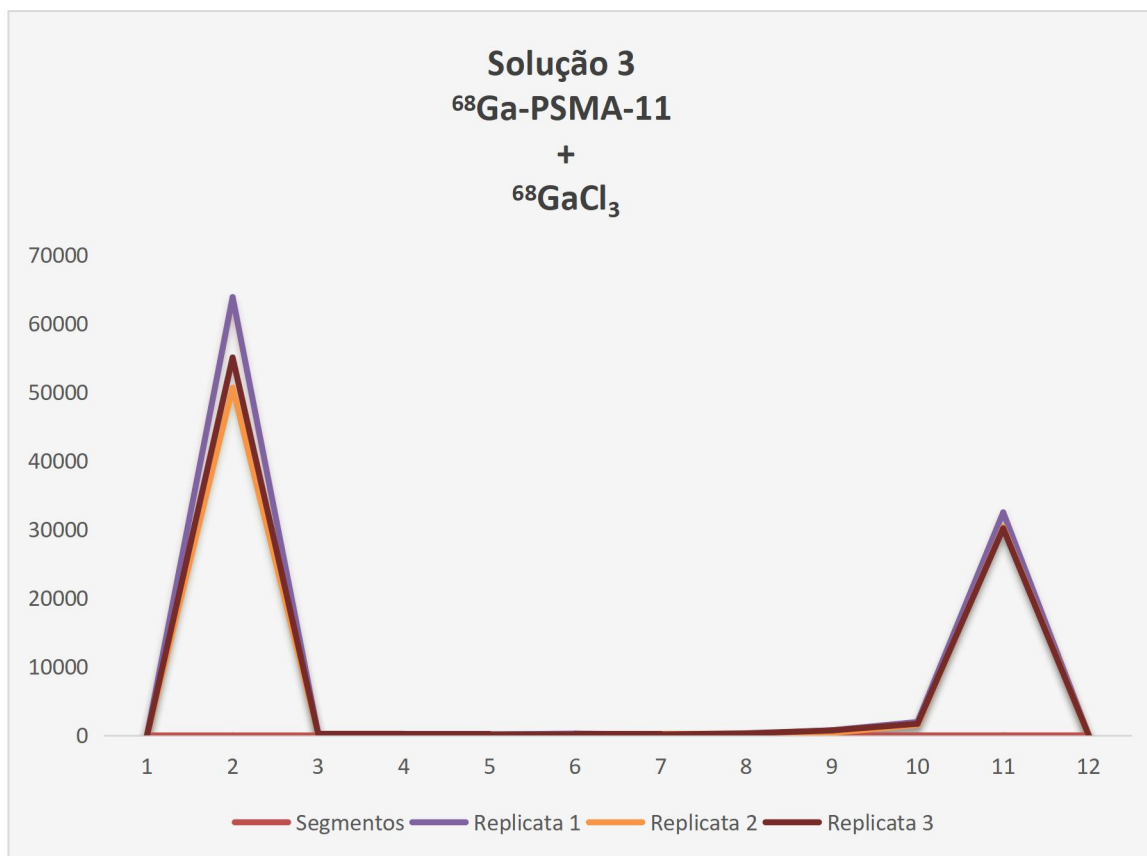
É possível perceber através da análise do perfil cromatográfico que não há alteração do R_f do produto marcado mesmo na presença da principal impureza radioativa (cloreto de gálio).

Tabela 15 - Perfil cromatográfico da impureza $^{68}\text{GaCl}_3$ e do produto $^{68}\text{Ga-PSMA-11}$.

Solução 3 ($^{68}\text{Ga-PSMA-11}$ + $^{68}\text{GaCl}_3$)			
Segmento	Fita 1 (cpm)	Fita 2 (cpm)	Fita 3 (cpm)
1	63856 (63,79%)	50666 (60,43%)	55056 (61,9%)
2	136 (0,13%)	136 (0,16%)	236 (0,26%)
3	196 (0,19%)	96 (0,11%)	211 (0,23%)
4	146 (0,14%)	96 (0,11%)	151 (0,16%)
5	271 (0,27%)	136 (0,16%)	221 (0,24%)
6	126 (0,12%)	231 (0,27%)	146 (0,16%)
7	201 (0,2%)	216 (0,25%)	311 (0,34%)
8	756 (0,75%)	381 (0,45%)	736 (0,82%)
9	1966 (1,99%)	1541 (1,83%)	1711 (1,92%)
10	32496 (32,44%)	30336 (36,18%)	30161 (33,91%)
$^{68}\text{Ga-PSMA-11}$	35218 (35,16%)	32258 (38,47%)	32608 (36,62%)
$^{68}\text{GaCl}_3$	64090 (63,92%)	50802 (60,59%)	55292 (62,19%)

Fonte: Autor

Figura 13 - Cromatograma do produto ^{68}Ga -PSMA-11 e da impureza $^{68}\text{GaCl}_3$.



Fonte: Autor

A solução teste 4 foi preparada para verificar o comportamento do produto na presença do excipiente (manitol). Para isso, a solução teste 4 consistiu em uma mistura de 100 μL de ^{68}Ga -PSMA-11 (com concentração de 1 mCi/mL) e 20 μL de manitol (com concentração de 100 mg/mL). Uma amostra de 5 μL dessa mistura foi aplicada na fita cromatográfica e submetida à separação cromatográfica, conforme o perfil mostrado na Tabela 16 e Figura 14.

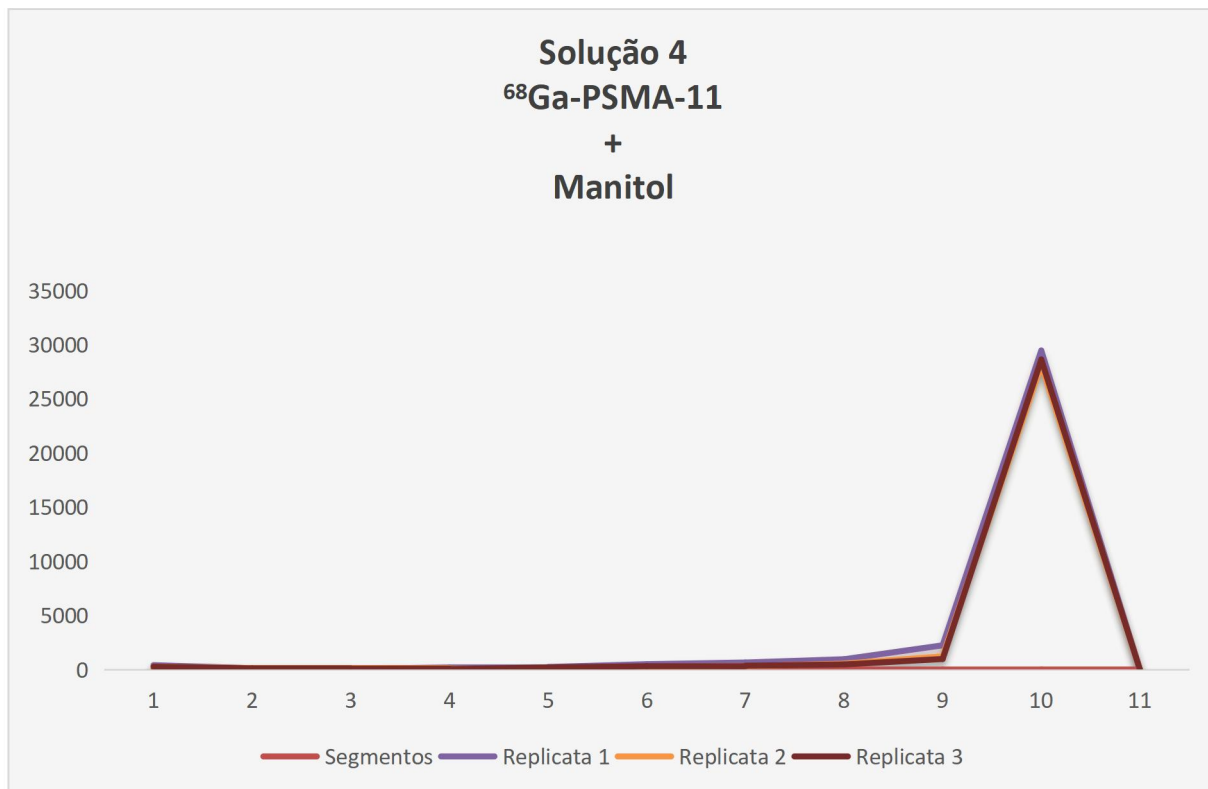
Com base no perfil cromatográfico observado, o R_f do produto continua em 0,8 - 1,0, mesmo na presença do principal excipiente da formulação.

Tabela 16 - Perfil cromatográfico do produto ^{68}Ga -PSMA-11 + manitol

Solução 4 (^{68}Ga-PSMA-11 + Manitol)			
Segmento	Fita 1 (cpm)	Fita 2 (cpm)	Fita 3 (cpm)
1	411 (1,17%)	271 (0,86%)	271 (0,86%)
2	131 (0,37%)	146 (0,46%)	116 (0,36%)
3	86 (0,24%)	146 (0,46%)	96 (0,3%)
4	201 (0,57%)	91 (0,29%)	56 (0,17%)
5	241 (0,69%)	96 (0,3%)	201 (0,63%)
6	501 (1,43%)	266 (0,85%)	311 (0,98%)
7	656 (1,88%)	326 (1,04%)	366 (1,16%)
8	956 (2,74%)	546 (1,74%)	476 (1,51%)
9	2241 (6,42%)	1221 (3,9%)	981 (3,11%)
10	29451 (84,44%)	28136 (90,04%)	28626 (90,87%)
^{68}Ga-PSMA-11	32648 (93,61%)	29903 (95,7%)	30083 (95,5%)

Fonte: Autor

Figura 14 - Cromatograma do produto ^{68}Ga -PSMA-11 + manitol.



Fonte: Autor

A solução teste 5 teve como objetivo investigar se a presença de excesso do excipiente (manitol) poderia modificar o perfil cromatográfico da impureza. Para isso, a solução teste 5 foi preparada com 100 μL de $^{68}\text{GaCl}_3$ (concentração de 74 MBq/mL) e 20 μL de manitol (concentração de 100 mg/mL). Uma amostra de 5 μL dessa solução foi aplicada na fita cromatográfica e submetida à separação cromatográfica, com o perfil resultante apresentado na Tabela 17 e Figura 15.

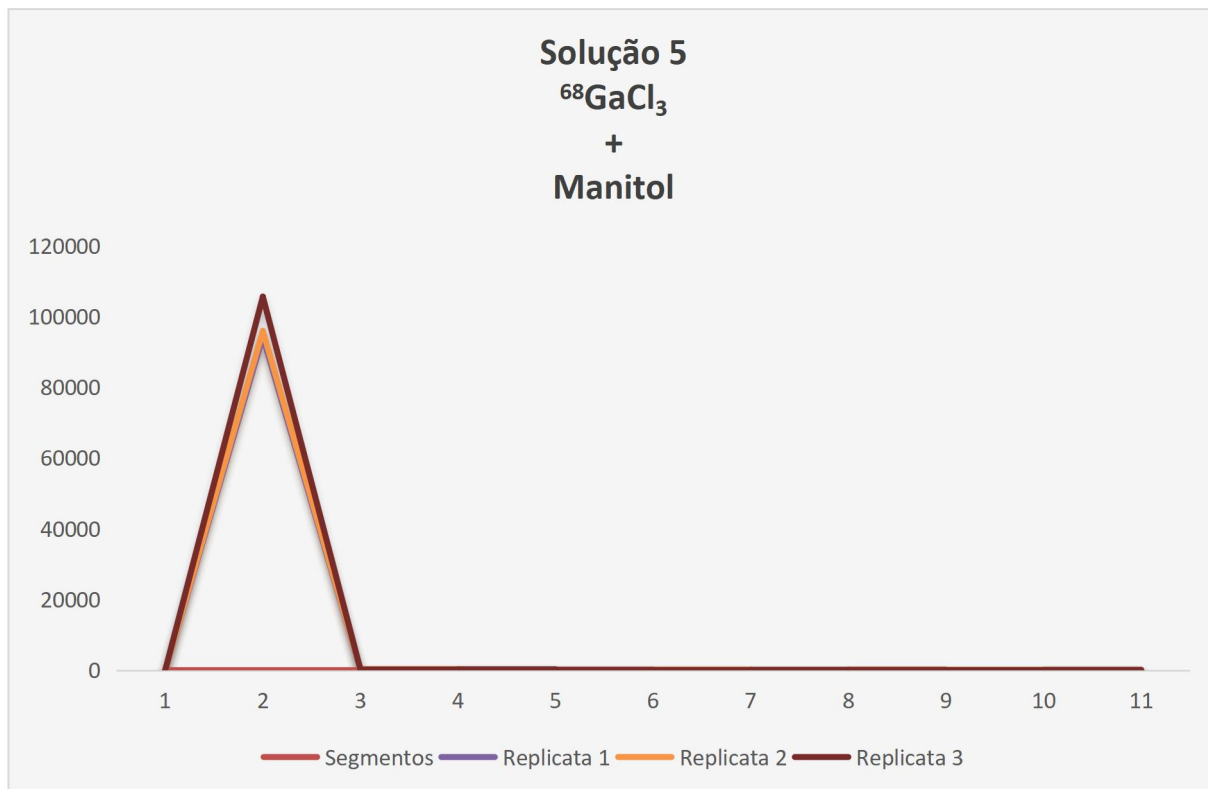
É possível perceber através da análise do perfil cromatográfico que não há alteração do R_f da principal impureza radioativa mesmo na presença do excipiente.

Tabela 17- Perfil cromatográfico da impureza $^{68}\text{GaCl}_3$ + manitol

Solução 5 $^{68}\text{GaCl}_3$ + Manitol			
Segmento	Fita 1 (cpm)	Fita 2 (cpm)	Fita 3 (cpm)
1	94276 (98,87%)	95941 (98,63%)	105601 (99,07%)
2	186 (0,19%)	296 (0,3%)	211 (0,19%)
3	156 (0,16%)	221 (0,22%)	261 (0,24%)
4	161 (0,16%)	121 (0,12%)	106 (0,09%)
5	86 (0,09%)	136 (0,13%)	61 (0,05%)
6	21 (0,02%)	71 (0,07%)	96 (0,09%)
7	76 (0,07%)	126 (0,12%)	101 (0,09%)
8	81 (0,08%)	106 (0,1%)	6 (0,0%)
9	126 (0,13%)	86 (0,08%)	56 (0,05%)
10	176 (0,18%)	161 (0,16%)	91 (0,08%)
$^{68}\text{GaCl}_3$	94462 (99,07%)	96237 (98,94%)	105812 (99,27%)

Fonte: Autor

Figura 15 - Cromatograma da impureza $^{68}\text{GaCl}_3$ + manitol.

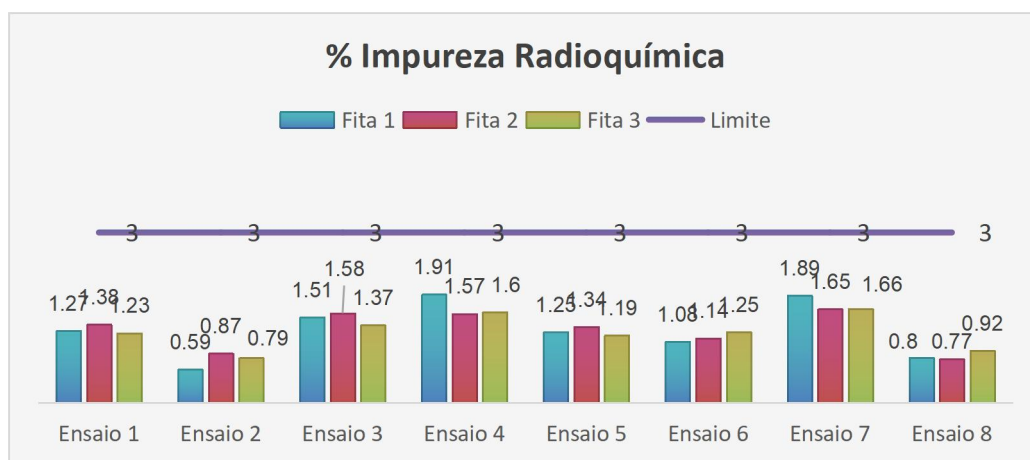


Fonte: Autor

7.3 Robustez

O ensaio da robustez foi realizado, em triplicata, com a variação dos principais parâmetros: a concentração radioativa da amostra (44,4 MBq/mL e 18,5 MBq/mL (1,2mCi/mL e 0,5 mCi/mL)), o volume aplicado (5 μL e 2 μL) na fita cromatográfica e a fase estacionária (iTLC-SG e TLC-SG). Os resultados dos ensaios encontram-se na Figura 16 e Tabela 18.

Figura 16 - Representação gráfica do ensaio da robustez



Fonte: Autor

Tabela 18 - Resultado da impureza radioquímica encontrada em cada ensaio da robustez.

Impureza Radioquímica (%)				
Ensaio	Fita 1	Fita 2	Fita 3	Média
1	1,27	1,38	1,23	1,29
2	0,59	0,87	0,79	0,75
3	1,51	1,58	1,37	1,48
4	1,91	1,57	1,6	1,69
5	1,25	1,34	1,19	1,26
6	1,08	1,14	0,94	1,05
7	1,89	1,65	1,66	1,73
8	0,8	0,77	0,92	0,83
M 1,26				
DP 0,304				
DPR 24,15				

M: média dos resultados; DP: desvio padrão; DPR: desvio padrão relativo.

Fonte: Autor

Embora a Resolução RDC nº 166/2017 da Anvisa não exija a validação completa de metodologias já descritas em compêndios oficiais, como Farmacopeias reconhecidas, incluindo o desenvolvimento do ensaio de robustez, a realização desse parâmetro foi considerada pertinente neste estudo. Isso se deve ao fato de que, à época da elaboração do projeto, o método cromatográfico para determinação da impureza radioquímica do ^{68}Ga -PSMA-11 ainda não constava na Farmacopeia

Europeia, não sendo, portanto, classificado como método farmacopeico. Dessa forma, a validação completa, incluindo o estudo de robustez foi planejada para o método em desenvolvimento. Mesmo com a posterior inclusão do método na Farmacopeia Europeia (11^a ed.), a validação completa manteve-se relevante, permitindo a avaliação do método frente às condições específicas de equipamentos, insumos e operadores garantindo a confiabilidade dos resultados e a adequação do método ao ambiente de controle de qualidade local.

7.4 Linearidade

O gráfico de linearidade foi construído utilizando as contagens de seis soluções radioativas. As concentrações radioativas serviram como variáveis independentes (eixo X), enquanto as contagens representaram as variáveis dependentes (eixo Y), conforme ilustrado na Figura 17. A Tabela 19 contém os dados utilizados no ensaio de linearidade para o cloreto de gálio. Apresentam-se as concentrações radioativas das amostras, os respectivos horários de diluição, de leitura, o tempo decorrido entre a diluição e a leitura, os fatores de correção aplicados com base no tempo decorrido, as contagens por minuto (CPM) normalizadas pelo equipamento e as CPM corrigidas pelo fator de decaimento radioativo.

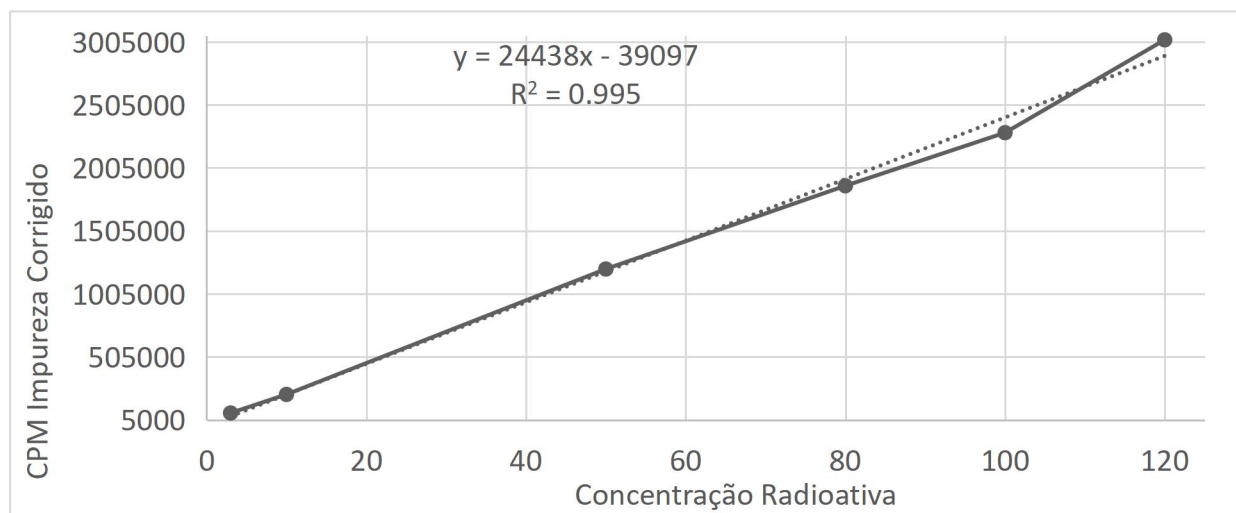
Tabela 19 - Concentrações radioativas das amostras e respectivas contagens (cpm) no ensaio de linearidade.

Concentração Radioativa MBq/mL (mCi/mL)	Concentração Radioativa (%)	Horário Diluição	Horário da Contagem	Tempo (min)	Fator de Correção	CPM Impureza Normalizado	CPM Impureza Corrigido Decaimento
1,11 (0,03)	3	14:36	18:08	212	0,1163	6950	59759
3,7 (0,1)	10	14:29	17:27	178	0,1642	34002	207077
18,5 (0,5)	50	13:53	16:47	174	0,1710	205567	1202146
29,6 (0,8)	80	13:44	16:07	143	0,2319	431972	1862751
37 (1,0)	100	13:21	15:27	126	0,2784	635859	2283976
44,4 (1,2)	120	12:49	14:47	118	0,3019	911924	3020616

CPM: Contagem por minuto.

Fonte: Autor

Figura 17 - Representação do gráfico de regressão linear de linha ajustada das diluições de 3% a 120%.



Fonte: Autor

A partir da observação do gráfico apresentado na Figura 16, é possível inferir, de forma visual, a existência de uma relação linear entre os pontos que compõem a curva analítica. Para complementar essa análise, foi avaliada a homocedasticidade dos dados por meio do teste de Cochran. O valor calculado da estatística ($C_{\text{calculado}}$) foi de 0,427, enquanto o valor crítico ($C_{\text{crítico}}$), obtido a partir do Guia 10 da Anvisa, considerando seis níveis de concentração com três réplicas cada, foi de 0,616. Como $C_{\text{calculado}} < C_{\text{crítico}}$, conclui-se que as variâncias são homocedásticas, validando o uso do Modelo de Mínimos Quadrados Ordinários (MMQO) para o ajuste da curva analítica. Com base na análise de variância (ANOVA), foram determinados os parâmetros estatísticos da curva, incluindo o intercepto (a), o coeficiente angular (b) e o coeficiente de correlação linear (r), conforme apresentado na Tabela 20.

Tabela 20 - Parâmetros da curva analítica obtidos a partir da tabela de ANOVA com significância de 5% e especificação dos parâmetros conforme Guia 10 da RDC 166 (Anvisa).

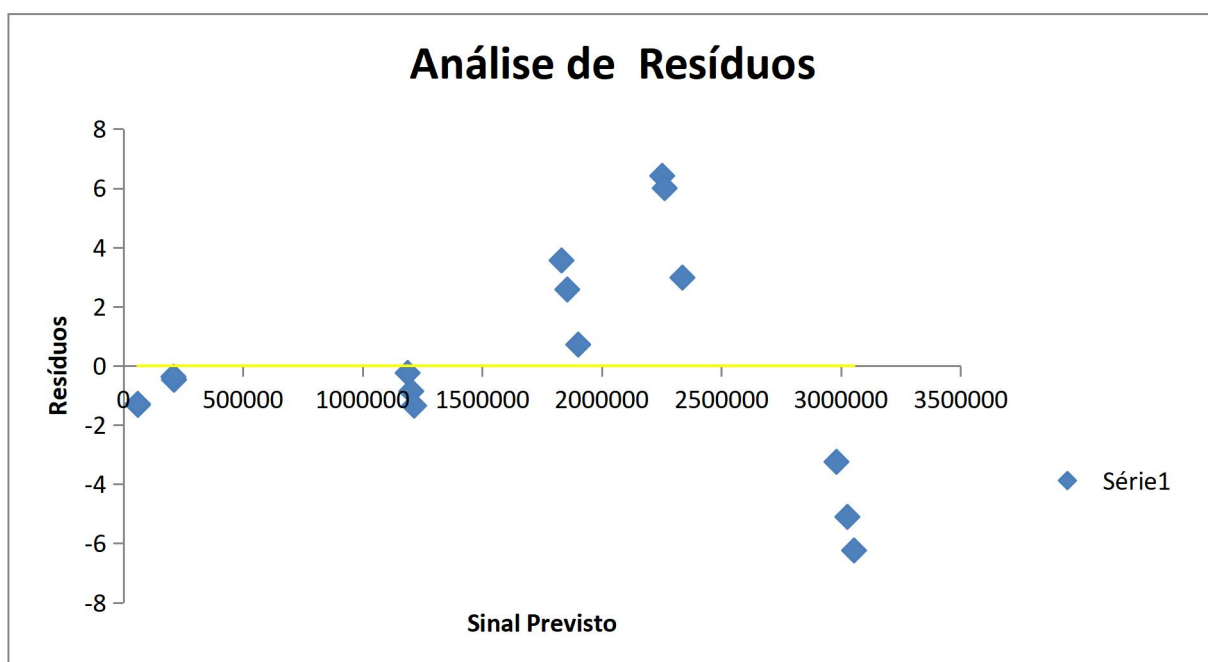
ANOVA		
Parâmetros	Resultado	Especificação
Coeficiente de correlação (r)	0,997	$\geq 0,990$
Inclinação, b	24438	$\neq 0$

Intercepto, a	-39097	Na
---------------	--------	----

Fonte: Autor

Outro parâmetro avaliado no ensaio de linearidade foi a distribuição dos resíduos, analisada por meio do gráfico de resíduos apresentado na Figura 18. Observa-se que os resíduos estão distribuídos de forma aleatória em relação às concentrações das amostras, sem tendência sistemática, o que indica a presença de distribuição aproximadamente normal e contribui para a validação do modelo de regressão adotado.

Figura 18 - Representação gráfica da dispersão dos resíduos.



Fonte: Autor

A presença de valores discrepantes foi avaliada por meio do teste de Grubbs, aplicado individualmente a cada ponto experimental. Considerando $n=18$ observações e um nível de confiança de 95%, o valor crítico adotado foi $G_{\text{crítico}}=2,65$. Todos os valores calculados da estatística de Grubbs foram inferiores ao valor crítico, não havendo, portanto, evidências para a rejeição da hipótese nula. Dessa forma, conclui-se que não há presença de outliers nos dados analisados.

O teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para avaliar a normalidade dos resíduos, resultando em um $DS-W_{\text{calculado}} W = 0,944$. Considerando um total de 18 observações (seis pontos da curva com três réplicas cada) e um intervalo de

confiança de 95%, o $DS-W_{\text{tabelado}}$ é de $W = 0,897$. Como o $DS-W_{\text{calculado}}$ é superior ao valor tabelado ($DS-W_{\text{calculado}} > DS-W_{\text{tabelado}}$), conclui-se que os resíduos seguem uma distribuição normal.

7.5 Intervalo

Os resultados das curvas de calibração demonstraram a adequação do modelo linear na faixa de 3% a 120% da concentração radioativa, determinada para o ensaio com a impureza $^{68}\text{Ga}^{+3}$. Isso estabelece uma faixa de trabalho eficaz para o ensaio de impureza radioquímica do ^{68}Ga -PSMA-11, como demonstrado na Tabela 21.

Tabela 21 – Porcentagem de $^{68}\text{Ga}^{+3}$ obtida para diferentes concentrações radioativas

Diluição	Média % Impureza radioquímica	DPR
3%	94,52	0,71
10%	98,32	0,85
50%	99,68	0,08
80%	99,77	0,03
100%	99,84	0,02
120%	99,77	0,06

DPR: Desvio Padrão Relativo

Fonte: Autor

7.6 Limite de quantificação (LQ)

O limite de quantificação (LOQ) foi determinado com base no desvio padrão dos resíduos da curva de calibração (σ) e na inclinação da reta (IC), conforme a RDC 166 de 2017 (Anvisa). O cálculo foi realizado utilizando a equação:

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC}$$

Com $\sigma=3,44$ (cálculos não demonstrados) e inclinação $IC=24438$, obteve-se:

LQ = 0,00141 MBq/mL (0,03%). Esse valor representa a menor concentração do analito que pode ser quantificada com precisão e exatidão aceitáveis dentro das condições do método analítico proposto.

7.7 Exatidão

Este ensaio não foi realizado, pois não há substância química de referência farmacopeica (SQRF) para avaliar a capacidade do método analítico em recuperar o ativo, que no caso trata-se de ^{68}Ga -PSMA-11.

7.8 System Suitability

A verificação do sistema (*system suitability*) foi realizada com a solução de cloreto de gálio-68, conduzida com fita iTLC-SG, utilizando como fase móvel a mistura de acetato de amônio 77g/L e metanol (1:1, v/v), conforme especificado pela Farmacopeia Europeia, 11^a ed.

Nos ensaios realizados, o fator de retenção (R_f) do pico principal da solução de referência (a) apresentou-se conforme estabelecido na Farmacopeia Europeia 11^a ed., com valor inferior a 0,1 (Tabela 22). No entanto, o valor de R_f obtido para a solução de referência (b) foi inferior a 0,7, apesar de ter sido observado o deslocamento da espécie.

Diversas condições experimentais foram testadas com o objetivo de alcançar o valor preconizado de R_f da solução de referência (b), incluindo variações no comprimento da fita (12, 13 e 15 cm), pH final da solução (1,0; 4,5; 8,0), tempo de reação da mistura (5 min), aquecimento prévio da mistura (90 °C por 10 min), além de uma tentativa utilizando fita TLC-SG (Tabela 23).

Uma hipótese levantada para o não atendimento ao critério de R_f da solução de referência (b) está relacionada à ativação térmica da fita iTLC-SG. Embora tenha sido realizada a 60 °C por 30 minutos (conforme protocolo de rotina da radiofarmácia do IPEN), o fabricante da fita (Agilent) recomenda que a ativação ocorra a 110 °C por 30 minutos. Acredita-se que essa diferença possa ter afetado a migração da espécie ^{68}Ga -DTPA. A ativação térmica tem como objetivo remover a água de hidratação presente nos poros da sílica gel e alterar a porosidade da fase

estacionária. Essa ativação pode impactar diretamente na velocidade de migração dos analitos com influência nos valores de R_f observados. Dessa forma, o padrão de ativação da fita pode ter contribuído para o não cumprimento do critério da solução (b). Novos testes deverão ser realizados para confirmar esta teoria. Entretanto, é importante ressaltar que a ativação da fita empregando a condição de 60 °C por 30 minutos não afetou o R_f das espécies ^{68}Ga -PSMA-11 e ^{68}Ga livre no sistema validado.

Tabela 22 - Resultado do ensaio de verificação do sistema (*system suitability*) para a solução de referência (a), contendo $^{68}\text{GaCl}_3$, conforme descrito na Farmacopeia Europeia, 11^a ed.

Segmento	Fita 1 (cpm)	Fita 2 (cpm)	Fita 3 (cpm)
1	293500	261255	254735
2	1689	2489	1899
3	569	454	489
4	194	54	269
5	89	79	279
6	129	114	124
7	109	109	4
8	89	89	4
9	159	139	84
10	399	549	214
$^{68}\text{GaCl}_3$ (%) $R_f \leq 1,0$	99,4	99,4	99,4

CPM: Contagem por minuto

Fonte: Autor

Tabela 23 - Condições experimentais avaliadas para obtenção do valor de R_f adequado da solução de referência (b) no ensaio de verificação do sistema (*system suitability*), conforme especificado pela Farmacopeia Europeia, 11^a ed.

	Fita TLC-SG	5 min de reação	Aquecimento 90°C por 10 min	pH 1,0	pH 4,5	pH 8,0	12 cm de corrida	13 cm de corrida	15 cm de corrida
Segmento									
1	38639	54549	13734	6300	3049	29655	6954	33359	32219
2	19864	9269	5419	6640	4534	10005	8614	3819	5739
3	17334	17589	7944	15215	7749	15845	16439	6789	9504
4	17084	32169	10619	31860	11394	31675	19509	14504	15014
5	16179	70219	17484	51510	20339	25595	29939	27759	27959
6	16294	99779	29009	38735	25484	12275	40749	36984	42089
7	16034	101550	35179	19485	20839	5340	45994	40559	25479

8	23259	52599	28409	7490	10329	2075	38364	22719	13809
9	8519	21054	14064	2705	4269	830	16199	13029	4514
10	199	9889	9039	1505	2514	700	5839	4034	1854
11	-	-	-	-	-	-	1814	1444	619
12	-	-	-	-	-	-	1049	469	259
13	-	-	-	-	-	-	-	534	124
14	-	-	-	-	-	-	-	-	104
15	-	-	-	-	-	-	-	-	214
⁶⁸ GaCl ₃ + DTPA +NaOH (%)	18,44	39	50	17	15,48	8,7	27,33	20,49	11,97

Nota: Os valores de porcentagem foram calculados com base na soma da atividade registrada a partir do segmento 8 até o final da fita. As fitas foram divididas em 10, 12, 13 ou 15 segmentos, a depender do comprimento utilizado em cada ensaio.

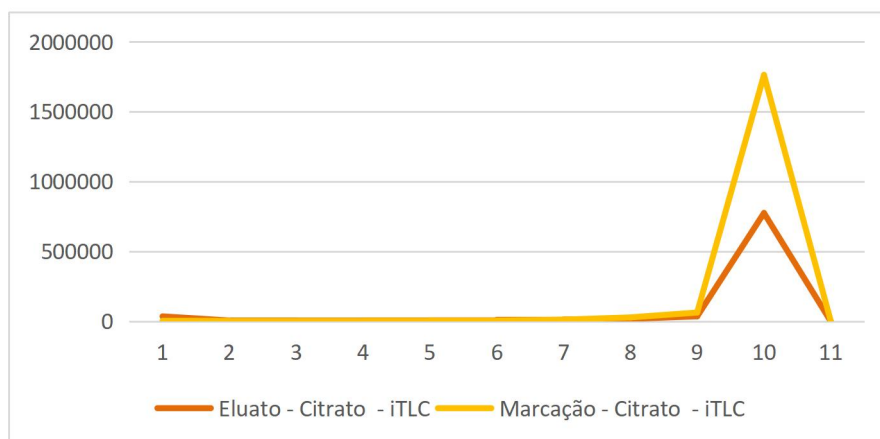
Fonte: Autor

8 SISTEMA CROMATOGRÁFICO ALTERNATIVO

Um dos objetivos deste trabalho foi explorar um sistema cromatográfico de CCD alternativo. Essa proposta surgiu com o objetivo de otimizar o processo analítico, unindo a agilidade da fita iTLC-SG, reconhecida por permitir corridas mais rápidas, com o uso de solução de citrato de sódio 0,1 M como fase móvel, um solvente aquoso amplamente empregado na rotina com placas TLC-SG (FREIRE, 2024; FREIRE et al., 2024). A intenção era eliminar o uso de solventes orgânicos, devido à toxicidade para o operador e para o ambiente e também pela dificuldade de aquisição, principalmente nas Radiofarmácias Hospitalares, por serem produtos de venda controlada. Entretanto, a corrida empregando TLC-SG e como fase móvel a solução de citrato de sódio 0,1M é lenta, sendo viável para radiofármacos que empregam radioisótopos de tempo de meia vida longa, como o lutécio-177, mas torna-se inviável para radiofármacos de gálio-68, devido ao curto tempo de meia vida deste radioisótopo. Por este motivo, decidiu-se avaliar o uso da solução de citrato de sódio 0,1M, porém, empregando-se fitas de iTLC-SG, cuja elevada porosidade resulta em corridas mais rápidas, mesmo empregando-se solventes totalmente aquosos.

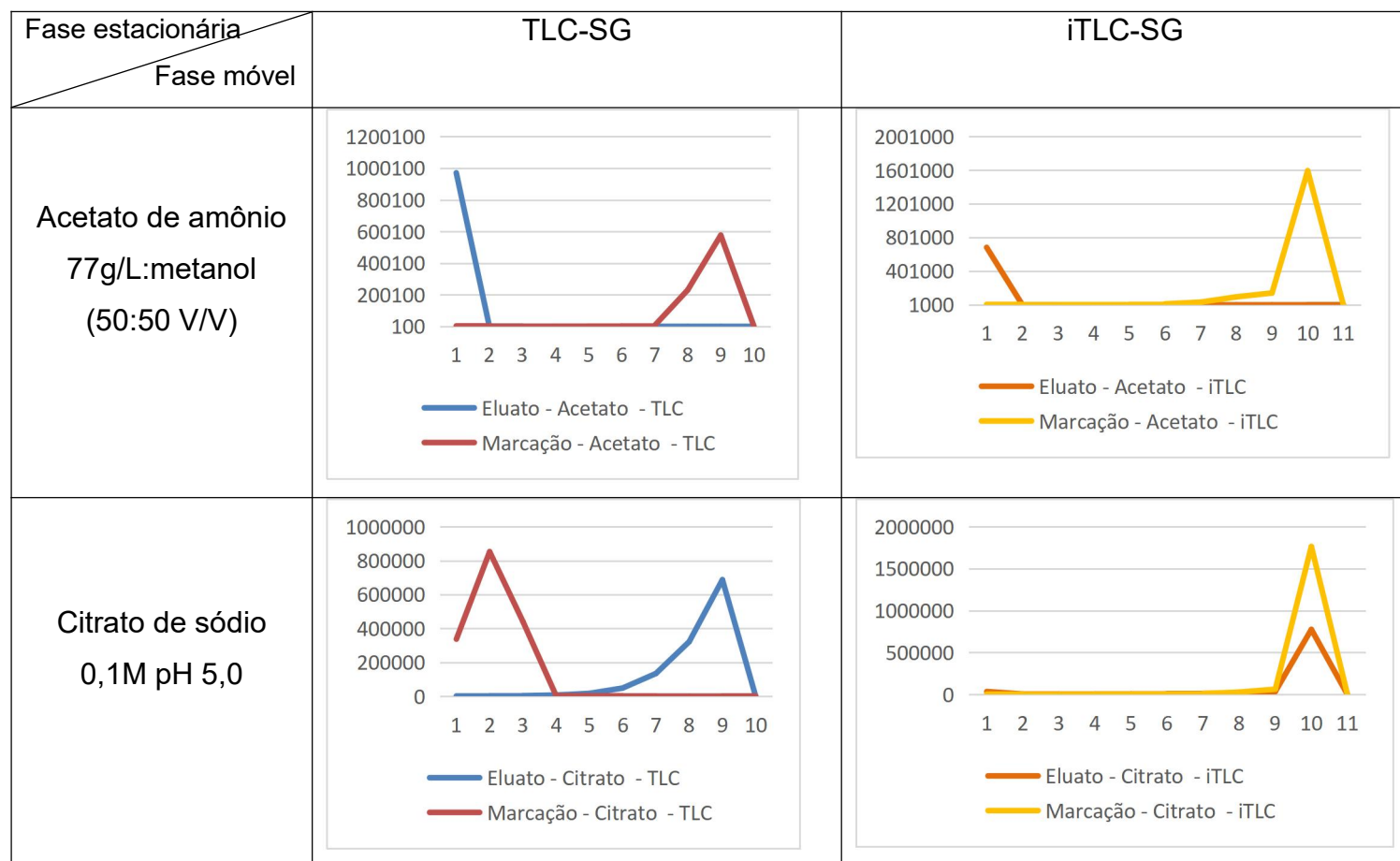
O primeiro teste a ser realizado para avaliar o potencial do sistema cromatográfico, antes de proceder à validação do método, é a seletividade, particularmente, avaliando-se o perfil cromatográfico do produto marcado (^{68}Ga -PSMA-11) e da impureza ($^{68}\text{Ga}^{+3}$). Nos testes realizados com esse sistema alternativo, contudo, observou-se que tanto o gálio-68 livre quanto o ^{68}Ga -PSMA-11 migraram até a frente da fita, impossibilitando sua separação. Esse achado está de acordo com o estudo de Eppard et al. (2017), que avaliou diferentes fases móveis em sistemas de TLC e iTLC e relatou que o citrato de sódio 0,1 M, quando combinado à fita iTLC-SG, não proporciona seletividade adequada, pois os valores de R_f de ambos os componentes são elevados e muito próximos ($^{68}\text{GaCl}_3$: 0,9–1,0; ^{68}Ga -PSMA-11: 0,7–0,8). Assim, a combinação proposta não se mostrou viável na prática. Os resultados estão demonstrados na Figura 19. A Figura 20 apresenta o perfil cromatográfico do ^{68}Ga -PSMA-11 e do $^{68}\text{GaCl}_3$ nos diferentes sistemas cromatográficos testados.

Figura 19 - Perfil cromatográfico do ^{68}Ga -PSMA-11 e do $^{68}\text{GaCl}_3$ na CCD com fita iTLC e solvente citrato de sódio.



Fonte: Autor

Figura 20 - Perfil cromatográfico do ^{68}Ga -PSMA-11 e do $^{68}\text{GaCl}_3$ em diferentes sistemas cromatográficos



Fonte: Autor

9 CONCLUSÃO

A execução do protocolo de validação do ensaio para determinação da impureza radioquímica do radiofármaco ^{68}Ga -PSMA-11 por meio da cromatografia em camada delgada (iTLC-SG), empregando acetato de amônio 1M: metanol (50:50 V/V) como fase móvel evidenciou que o método é seletivo e apresenta boa repetibilidade, precisão intermediária, linearidade e robustez na detecção da principal impureza radioquímica presente ($^{68}\text{Ga}^{+3}$). O protocolo de validação foi elaborado de acordo com os parâmetros descritos na Farmacopeia Europeia 11^a. Ed.

Por meio destes ensaios foi possível comprovar que o método funcionou adequadamente para o produto, considerando as condições técnicas e operacionais (equipamentos e pessoal) empregadas. Eles asseguraram que não houve interferência dos componentes da formulação e que os resultados obtidos eram confiáveis, não aleatórios.

O objetivo secundário do trabalho foi a avaliação de um sistema cromatográfico alternativo, combinando a fita iTLC-SG com a solução de citrato de sódio 0,1 M como fase móvel, com o objetivo de otimizar o processo analítico e eliminar o uso de solventes orgânicos. No entanto, os testes demonstraram que tanto o ^{68}Ga -PSMA-11 quanto o gálio-68 livre migraram até a frente da fita, impedindo sua separação. Esse comportamento evidenciou a ausência de seletividade do sistema, inviabilizando sua aplicação prática. Dessa forma, esse sistema alternativo não foi validado.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFSHAR-OROMIEH, Ali et al. Comparison of PET imaging with a ^{68}Ga -labelled PSMA ligand and ^{18}F -choline-based PET/CT for the diagnosis of recurrent prostate cancer. **European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Heidelberg, v. 41, n. 1, p. 11–20, jan. 2014. DOI: 10.1007/s00259-013-2525-5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24072344/>. Acesso em: 15 jun. 2025.

BLUEMEL, Christina et al. ^{68}Ga -PSMA-PET/CT in patients with biochemical prostate cancer recurrence and negative ^{18}F -choline-PET/CT. **Clinical Nuclear Medicine**, Philadelphia, v. 41, n. 7, p. 515–521, jul. 2016. DOI: 10.1097/RLU.0000000000001197. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26975008/>. Acesso em: 15 jun. 2025.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa nº 35, de 21 de agosto de 2019**. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares a medicamentos estéreis. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n. 162, p. 22, 22 ago. 2019. Disponível em: <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=426343>. Acesso em: 15 jun. 2025.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa nº 128, de 30 de março de 2022**. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares a medicamentos radiofármacos. Diário Oficial da União: edição nº 78, São Paulo, seção 1, p. 354, 31 mar. 2022. Disponível em: https://anvisa.legis.datalegis.net/action/ActionDatalegis.php?acao=abrirTextoAto&tipo=INM&numeroAto=00000128&seqAto=000&valorAno=2022&orgao=DC/ANVISA/MS&codTipo=&desItem=&desItemFim=&cod_menu=9434&cod_modulo=310&pesquisa=true. Acesso em: 15 jun. 2025.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 166, de 24 de julho de 2017**. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n. 141, p. 30, 25 jul. 2017. Disponível em: https://anvisa.legis.datalegis.net/action/ActionDatalegis.php?acao=abrirTextoAto&link=S&tipo=RDC&numeroAto=00000166&seqAto=000&valorAno=2017&orgao=RDC/D C/ANVISA/MS&cod_modulo=310&cod_menu=8542. Acesso em: 10 jun. 2025.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 658, de 30 de março de 2022**. Dispõe sobre as boas práticas para a organização e o funcionamento dos serviços de medicina nuclear. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 1 abr. 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-658-de-30-de-marco-de-2022-389846242>. Acesso em: 16 jun. 2025.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 738, de 28 de julho de 2022**. Estabelece requisitos para registro, notificação, importação e controle de qualidade de radiofármacos. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n. 144, p. 127–128, 1 ago. 2022. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/servlet/INPDFViewer?captchafield=firstAccess&data=01/08/2022&jornal=515&pagina=127>. Acesso em: 15 jun. 2025.

BRAY, Freddie et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: **A Cancer Journal for Clinicians**, v. 74, n. 3, p. 229–263, abr. 2024. DOI: 10.3322/caac.21834. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21834>. Acesso em: 11 jun. 2025.

EDER, Matthias et al. ^{68}Ga -complex lipophilicity and the targeting property of a urea-based PSMA inhibitor for PET imaging. **Bioconjugate Chemistry**, Washington, v. 23, n. 4, p. 688–697, abr. 2012. DOI: 10.1021/bc200279b. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22369515/>. Acesso em: 16 jun. 2025.

EPPARD, E.; HOMANN, T.; DE LA FUENTE, A.; ESSLER, M.; RÖSCH, F. Optimization of labeling PSMA HBED with ethanol-postprocessed ^{68}Ga and its quality control systems. **The Journal of Nuclear Medicine**, [S.l.], v. 58, n. 3, p. 432–437, mar. 2017. DOI: <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.177634>. Disponível em: <https://jnm.snmjournals.org/content/58/3/432>. Acesso em: 23 jun. 2025.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 11.0. GALLIUM (^{68}Ga) CHLORIDE SOLUTION FOR RADIOLABELLING. Em: 11.0a ed. [s.l.] Eur Pharm., 2024. p. 1273–1274.

FENDLER, Wolfgang P. et al. PSMA PET/CT: joint EANM procedure guideline/SNMMI procedure standard for prostate cancer imaging 2.0. **European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Heidelberg, v. 50, n. 5, p. 1466–1486, abr. 2023. DOI: 10.1007/s00259-022-06089-w. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36604326/>. Acesso em: 15 jun. 2025.

FREIRE, M. R. V. B. et al. Development of a ready-to-use PSMA-11 kit formulation and biological evaluation of binding affinity. **Advances in Molecular Imaging**, [S.l.], v. 13, p. 7–22, 30 abr. 2024. DOI: 10.4236/ami.2024.132002. Disponível em: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=134078>. Acesso em: 10 jul. 2025.

FREIRE, Maria Renata Valente Brandão. **Desenvolvimento farmacotécnico de kit liofilizado para pronta marcação com ^{68}Ga e avaliação pré-clínica**. 2024. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85131/tde-19072024-145812/>. Acesso em: 15 jun. 2025.

HENNRICH, U.; BENEŠOVÁ, M. New ^{68}Ga and ^{18}F -labelled PSMA ligands for diagnosis and therapy of prostate cancer. **Pharmaceuticals, Basel**, v. 13, n. 3, p. 38, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8247/14/8/713>. Acesso em: 07 jul. 2025.

HUANG, Siyu et al. Comparison of ^{18}F -based PSMA radiotracers with ^{68}Ga -PSMA-11 in PET/CT imaging of prostate cancer – a systematic review and meta-analysis. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, v. 27, p. 654–664, 2024. DOI: 10.1038/s41391-023-00755-2. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38017295/>. Acesso em: 15 jun. 2025.

HUMPHREY, Peter A. Histopathology of prostate cancer. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, Cold Spring Harbor, v. 7, n. 10, p. a030411, 3 out. 2017. DOI: 10.1101/cshperspect.a030411. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28389514/>. Acesso em: 11 jun. 2025.

KÄLL, Mikael et al. Gallium-68 DOTATATE production with automated PET module: a 500-synthesis experience. **Journal of Nuclear Medicine Technology**, v. 52, n. 2, p. 147–151, jun. 2024. DOI: 10.2967/jnmt.124.269096. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11708805/>. Acesso em: 12 jun. 2025.

LEPAREUR, Nicolas. Cold kit labeling: the future of ^{68}Ga radiopharmaceuticals? **Frontiers in Medicine (Lausanne)**, v. 9, art. 812050, 10 fev. 2022. DOI: 10.3389/fmed.2022.812050. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8869247/>. Acesso em: 15 jun. 2025.

MEISENHEIMER, Michael et al. Manual vs automated ^{68}Ga -radiolabelling — a comparison of optimized processes. **Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals**, v. 63, p. 162–173, 2020. DOI: 10.1002/jlcr.3821. Disponível em: <https://www.positronmed.cl/wp-content/uploads/2020/08/Meisenheimer-et-al.-2019-J-Lab-Compounds-manual-vs-automated-68Ga.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2025.

MOLAVIPORDANJANI, Sajjad; HOSSEINIMEHR, Seyed Jalal. Fundamental concepts of radiopharmaceuticals quality controls. **Pharmaceutical and Biomedical Research**, Sari, v. 4, n. 3, p. 1–8, mar. 2018. DOI: 10.18502/pbr.v4i3.538. Disponível em: <https://pbr.mazums.ac.ir/article-1-198-en.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2025.

PERERA, Marlon et al. Sensitivity, specificity, and predictors of positive ^{68}Ga -prostate-specific membrane antigen positron emission tomography in advanced prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. **European Urology**, Amsterdam, v. 70, n. 6, p. 926–937, dez. 2016. DOI: 10.1016/j.eururo.2016.06.021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27363387/>. Acesso em: 12 jun. 2025.

PLATABELLO, A.; CONCEPCIÓN MASIP, T. Prostate cancer epidemiology. **Archivos Españoles de Urología**, Madrid, v. 67, n. 5, p. 373–382, jun. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24914835/>. Acesso em: 18 jul. 2025.

POMYKALA, Kelsey L. M. et al. Molecular imaging for primary staging of prostate cancer. **Seminars in Nuclear Medicine**, v. 49, n. 4, p. 271–279, dez. 2019. DOI: 10.1053/j.semnuclmed.2019.02.004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31227050/>. Acesso em: 12 jun. 2025.

SAMARATUNGA, Hemamali et al. From Gleason to International Society of Urological Pathology (ISUP) grading of prostate cancer. **Scand J Urol**, Stockholm, v. 50, n. 5, p. 325–329, out. 2016. DOI: 10.1080/21681805.2016.1201858. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27415753/>. Acesso em: 11 jun. 2025.

SANTOS, M.J. **Validação de métodos analíticos cromatográficos, CCD-SG e CLAE, para determinação da pureza radioquímica do radiofármaco PSMA- I&T- ^{177}Lu** . 2024. 83f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de

Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo. Disponível em <http://repositorio.ipen.br/>. Acesso em: 12 ju. 2025

SANTOS, Marceli de Oliveira et al. Estimativa de incidência de câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 69, n. 1, e-213700, fev. 2023. DOI: 10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/3700/2644>. Acesso em: 11 jun. 2025.

TAYAL, Sachin et al. Time-efficient HPLC validation methodology for the qualitative analysis of ^{68}Ga PSMA-11 in routine clinical usage under isocratic method. **Indian Journal of Nuclear Medicine**, Varanasi, v. 39, n. 4, p. 265–271, jul./ago. 2024. DOI: 10.4103/ijnm.ijnm_42_24. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39790815/>. Acesso em: 12 jun. 2025.

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

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