



**DETERMINAÇÃO DE IMPUREZAS RADIOATIVAS EM
COMPOSTOS MARCADOS COM IÔDO-131 PELO EMPRÊ-
GO DA CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA**

*BRUNO STRUFALDI, EMILIO ENGELSTEIN, ALDO E. A. MITTA
e JOSÉ CARLOS BARBÉRIO*

PUBLICAÇÃO IEA N.º 120
Dezembro — 1965

INSTITUTO DE ENERGIA ATÔMICA
Caixa Postal 11049 (Pinheiros)
CIDADE UNIVERSITÁRIA "ARMANDO DE SALLES OLIVEIRA"
SÃO PAULO — BRASIL

DETERMINAÇÃO DE IMPUREZAS RADIOATIVAS EM COMPOSTOS MARCADOS COM
IÓDO-131 PELO EMPREGO DA CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

Bruno Strufaldi* ; Emílio Engelstein** ; Aldo E.A. Mitta** e
José Carlos Barbério*

Divisão de Radiobiologia
Instituto de Energia Atômica
São Paulo - Brasil

Publicação IEA nº 120
Dezembro - 1965

©

(*) Divisão de Radiobiologia do I.E.A. - S. Paulo - Brasil

(**) A.I.E.A. e División Moléculas Marcadas. CNEA - Buenos Aires - Argentina

Comissão Nacional de Energia Nuclear

Presidente: Prof.Dr. Luiz Cintra do Prado

Universidade de São Paulo

Reitor: Prof.Dr. Luiz Antonio da Gama e Silva

Instituto de Energia Atômica

Diretor: Prof.Dr. Rômulo Ribeiro Pieroni

Conselho Técnico-Científico do IEA

Prof.Dr. José Moura Gonçalves	}	pela USP
Prof.Dr. Walter Borzani		
Prof.Dr. Rui Ribeiro Franco	}	pela CNEN
Prof.Dr. Theodoretto H.I. de Arruda Souto		

Divisões Didático-Científicas

Divisão de Física Nuclear -

Chefe: Prof.Dr. Marcello D.S. Santos

Divisão de Radioquímica -

Chefe: Prof.Dr. Fausto Walter de Lima

Divisão de Radiobiologia -

Chefe: Prof.Dr. Rômulo Ribeiro Pieroni

Divisão de Metalurgia Nuclear -

Chefe: Prof.Dr. Tharcísio D.S. Santos

Divisão de Engenharia Química -

Chefe: Lic. Alcídio Abrão

Divisão de Engenharia Nuclear -

Chefe: Engº Pedro Bento de Camargo

Divisão de Operação e Manutenção de Reatores -

Chefe: Engº Azor Camargo Penteado Filho

Divisão de Ensino e Formação -

Chefe: Prof.Dr. Luiz Cintra do Prado (Licenciado)

DETERMINAÇÃO DE IMPUREZAS RADIOATIVAS EM COMPOSTOS MARCADOS COM
IÓDO-131 PELO EMPRÊGO DA CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA.

Bruno Strufaldi* ; Emílio Engelstein** ; Aldo E.A. Mitta** e
José Carlos Barbério*

RESUMO

Os autores empregam a técnica de cromatografia em camada delgada para o controle radioquímico de quatro substâncias marcadas com ^{131}I , de interesse médico-biológico: Iodoantipirina, Polivinilpirrolidona, Insulina e Hormônio de Crescimento Humano. Verificam que a técnica é bastante rápida e sensível para a separação da impureza radioquímica presente (^{131}I). Em todos os casos foi possível uma separação muito nítida dos componentes. Concluem ser a técnica aplicável aos ensaios rotineiros para controle de marcação das substâncias estudadas.

SUMMARY

The authors employ the thin layer chromatography technique in the radiochemical control of four substances of medical and biological interest labelled with ^{131}I : Iodineantipirine, Polivinylpyrrolidone, Insuline and Human Growth Hormone. This technique was found to be of rapid execution and sensible for the separation of the remaining radiochemical impurity (^{131}I). In all cases a very sharp separation of the components was feasible. The authors conclude that the technique is applicable as a routine test for control of the labelling of the substances studied.

SUMARIO

Los autores utilizan la técnica de cromatografia en capa delgada para el control radioquímico de cuatro substancias marcadas con ^{131}I , de interés médico-biológico: Iodoan-

Trabalho efetuado durante a permanência do Dr. Aldo E.A. Mitta, da Agência Internacional de Energia Atômica, junto à Divisão de Radiobiologia, do Instituto de Energia Atômica de São Paulo.

Apresentado ao Congresso de Utilização de Reatores de Pesquisa, realizado em São Paulo, em 1963, e posteriormente publicado no Relatório nº 129 da A.I.E.A..

tipirina, Polivinilpirrolidona, Insulina y Hormona de crecimiento humano. Verifican que la técnica es bastante rápida y sensible para la separación de la impureza radioquímica presente (^{131}I). En todos los casos fue posible una separación muy nítida de los componentes. Concluyen que la técnica es aplicable a los ensayos de rutinas para control de la marcación de las sustancias estudiadas.

INTRODUÇÃO

A cromatografia em camada delgada surgiu em 1938, com os trabalhos de IZMAILOV e SHRAIBER⁽¹⁾. Em 1949 MEINHARD e HALL⁽²⁾ introduziram a técnica que denominaram "microslides" e, dois anos mais tarde, KIRCHNER e colaboradores⁽³⁾ criavam os "chromatostripes". Em 1954, REITSEMA⁽⁴⁾ utilizava os "chromatoplates" em substituição às técnicas até então, desenvolvidas. Somente em 1956, com as técnicas introduzidas por STAHL, o método pode ser difundido e aplicado aos mais diversos setores das ciências⁽⁵⁾.

SNYDER e MANGOLD, trabalhando separadamente, aplicaram a técnica aos compostos radioativos, com a finalidade de eliminar impurezas radioativas dos compostos de carbono e trítio, e gorduras marcadas do tipo trioleína ^{131}I , respectivamente⁽⁶⁾⁽⁷⁾.

Baseados nos mesmos princípios, em 1963 iniciamos na Divisão de Radiobiologia, algumas técnicas de separação cromatográfica em camada delgada.

Nosso interesse recaiu em quatro substâncias de importância médico-biológica, que havíamos "marcado" com ^{131}I : Iodoantipirina, Polivinilpirrolidona, Insulina e Hormônio de Crescimento Humano.

PARTE EXPERIMENTAL

Iodoantipirina - ^{131}I

O composto foi marcado por nós mesmos, com alta atividade específica⁽⁸⁾.

Para o desenvolvimento do cromatograma, empregou-se como solvente uma mistura constituída de Clorofórmio-Toluol (80:20) e placas de Kieselgur G. Merck, com aproximadamente 250 micra de espessura. O tempo de corrida foi de 25 minutos e, nestas condições, o solvente migra rapidamente e arrasta a Iodoantipirina, dando um Rf aproximado de 0,85, enquanto a impureza radioquímica permanece na origem ($R_f \approx 0,00$). Utilizou-se como revelador para a Iodoantipirina o reativo de Draggendorf⁽⁹⁾, que dá cor vermelha-laranja; para revelar o iodeto, usou-se acetato de chumbo, que dá coloração amarela.

Para a determinação das atividades, as placas depois de secas e reveladas, foram divididas em 4 setores e cada um deles transferidos separadamente para tubos de plástico, para contagem em cintilador de poço.

Os resultados se encontram na Tabela I, discriminados na seguinte ordem:

- Tubo 1 - Região do iodeto (^{131}I)
- Tubo 2 - Região intermediária
- Tubo 3 - Região da Iodoantipirina (^{131}I)
- Tubo 4 - Região de "back ground"

TABELA I

Tubos nº	I.A. ^{127}I + ^{131}I	I.A. ^{131}I + ^{127}I + ^{131}I	I.A. ^{131}I + ^{127}I
1	83.192 cpm	262.587 cpm	346 cpm
2	219 cpm	642 cpm	⑥ 471 cpm
3	206 cpm	11.973 cpm	8.996 cpm
4	190 cpm	497 cpm	430 cpm

Polivinilpirrolidona - ^{131}I

Esta substância, também, foi marcada na DRB, IEA.

Para o ensaio cromatográfico em camada delgada, usou-se um solvente por nós elaborado, constituído de Fenol-Citrato de sódio-Fosfato monossódico-Água (100:6,3:3,7:100). Agitou-se a mistura e separou-se a camada inferior, utilizada como solvente. A placa usada foi de Sílica Gel Merck, de 250 micra de espessura e o tempo de corrida igual a 35 minutos. Para o iodeto obteve-se um Rf aproximadamente igual a 0,95 e para a polivinilpirrolidona ^{131}I , um Rf igual a 0,00.

Como revelador para o PVP⁽¹⁰⁾, utilizou-se uma solução alcoólica de iodeto de bismuto, que dá com o mesmo uma coloração vermelho-laranja; para o iodeto, solução de acetato de chumbo.

Na Tabela II são apresentados os resultados obtidos, seguindo-se o mesmo esquema anterior.

- Tubo 1 - Região do PVP
- Tubo 2 - Região intermediária
- Tubo 3 - Região do iodeto (^{131}I)
- Tubo 4 - Região de "back ground"

TABELA II

Tubos nº.	PVP* ^{127}I ^{131}I	PVP ^{131}I ^{127}I ^{131}I	PVP ^{131}I ^{127}I
1	420 cpm	37.821 cpm	22.988 cpm
2	279 cpm	608 cpm	335 cpm
3	137.212 cpm	126.376 cpm	943 cpm
4	301 cpm	287 cpm	326 cpm

Insulina - ^{131}I e Hormônio de Crescimento Humano - ^{131}I

Para a marcação destas substâncias utilizou-se a técnica de microdifusão⁽¹¹⁾. Para o desenvolvimento dos cromatogramas, usou-se como solvente uma mistura de Acetona:n-Butanol:Amoníaco conc.:Água (65:20:10:5)⁽¹²⁾. As placas foram preparadas com Sílica-Gel Merck, de 250 micra de espessura e o tempo de corrida foi

igual a 25 minutos. Em ambos os casos, utilizou-se a ninhidrina como revelador, aquecendo-se as placas a 120°C (especialmente para o Hormônio de Crescimento); para o iodeto ^{131}I , solução de acetato de chumbo. Os correspondentes Rf foram, 0,00 para as proteínas e 0,6-0,7 para o iodeto.

As tabelas III e IV apresentam os resultados obtidos, seguindo-se os esquemas já descritos.

- Tubo 1 - Região da Insulina - Hormônio de Crescimento
 Tubo 2 - Região intermediária
 Tubo 3 - Região do iodeto (^{131}I)
 Tubo 4 - Região de "back ground"

TABELA III

Tubos nº	Ins. ^{127}I ^{131}I	Ins. ^{131}I ^{127}I ^{131}I	Ins. ^{131}I ^{127}I
1	409 cpm	106.546 cpm	129.516 cpm
2	256 cpm	664 cpm	500 cpm
3	54.657 cpm	44.560 cpm	2.922 cpm
4	341 cpm	655 cpm	641 cpm

TABELA IV

Tubos nº	H.C. ^{127}I ^{131}I	H.C. ^{131}I ^{127}I ^{131}I	H.C. ^{131}I ^{127}I
1	339 cpm	37.773 cpm	28.672 cpm
2	400 cpm	563 cpm	452 cpm
3	160.256 cpm	162.526 cpm	1.561 cpm
4	523 cpm	352 cpm	259 cpm

REFERÊNCIAS

- 1 - Izmailov, N.A. e Shraiber, M.S. - Farmazsiya, nº 3-1/7(1938).
- 2 - Meinhard, J.E. e Hall, N.F. - Anal. Chem. 21, 885 (1949).

- 3 - Kirchner, J.G. et al - Anal. Chem. 23, 420 (1951).
- 4 - Reitsema, R.H. et al - Anal. Chem. 26, 960 (1954).
- 5 - Stahl, E. - Pharmazie II, 633 (1959).
- 6 - Snyder, F. and Stephens, N. - Anal. Biochem. 4, 128 (1962).
- 7 - Mangold, H.K. and Malins, D.C. - J.Am. Oil Chemists' Soc., 37, 383 (1960).
- 8 - Mitta, A.E.A. y Camin L.L. Informe nº 112, CNEA (1964).
- 9 - Block, R.J., Durrum, E.L. and Zweig, G. - Paper Chromatography and Paper Electrophoresis, 2nd Edition, 1958 - Academic Press Inc. p. 164.
- 10 - Apud Chem. Abstr. 48, 5920 (1954).
- 11 - Banerjee, R.N. et al - Nature, 192, 746 (1961).
- 12 - Seiler, H. y Kaffenberger, T. Helv. Chim. Acta, XLIV, 1282 (1961).

.....