



**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**

Mestrado Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde

**Estudo da otimização do processo de marcação do peptídeo  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T  
para aplicação no tratamento do câncer de próstata metastático resistente à  
castração com base em um conceito teranóstico**

Versão original

**MARIA DAS DORES DOMINGOS**

Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de Mestre  
Profissional em Tecnologia das Radiações em  
Ciências da Saúde na Área de Concentração

Radiofarmácia e Medicina Nuclear

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

São Paulo  
2025

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**

Mestrado Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde

**Estudo da otimização do processo de marcação do peptídeo  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T  
para aplicação no tratamento do câncer de próstata metastático resistente à  
castração com base em um conceito teranóstico**

**MARIA DAS DORES DOMINGOS**


Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de Mestre  
Profissional em Tecnologia das Radiações em  
Ciências da Saúde na Área de Concentração:

Radiofarmácia e Medicina Nuclear

Orientadora:

Profa. Dra. **Elaine Bortoleti de Araújo.**

São Paulo  
2025



## FICHA CATALOGRÁFICA

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

Como citar:

**DOMINGOS, M. D. Estudo da otimização do processo de marcação do peptídeo  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T para aplicação no tratamento do câncer de próstata metastático resistente à castração com base em um conceito teranóstico.** 2024. 102 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo.

Disponível em: <<http://repositorio.ipen.br/>> (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

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

Domingos, Maria das Dores.

Estudo da otimização do processo de marcação do peptídeo  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T para aplicação no tratamento do câncer de próstata metastático resistente à castração com base em um conceito teranóstico/Maria Das Dores Domingos; orientadora Profa. Dra. Elaine Bortoleti de Araújo. São Paulo, 2025.  
102 f.

Dissertação (Mestrado Profissional) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde (Radiofarmácia) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2025.

1.  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T. 2. CCD-SG; CLAE-HPLC. 3. Câncer de Próstata 4. Parâmetros de variação, 5. Pureza radioquímica

# FOLHA DE APROVAÇÃO

**Autor:** Maria das Dores Domingos

**Título:** Estudo da otimização do processo de marcação do peptídeo  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T para aplicação no tratamento do câncer de próstata metastático resistente à castração com base em um conceito teranóstico

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre Profissional em Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde na Área de Concentração:

Radiofarmácia e Medicina Nuclear

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

Dados: 07/02/2025

## Banca Examinadora

Profa. Dra. Elaine Bortoleti de Araújo      Julgamento: \_\_\_\_\_

**Instituição:** Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN

Profa. Dra. Margareth Mie Nakamura Matsuda      Julgamento: \_\_\_\_\_

**Instituição:** Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN

Prof. Dr. Fabio Luiz Navarro Marques      Julgamento: \_\_\_\_\_

**Instituição:** Laboratório de Radiofarmácia - Centro de Medicina Nuclear - InRad-HC-FMUSP

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por ter me concedido sabedoria e paciência para que eu pudesse trilhar os caminhos do mestrado, aos meus pais Laurentina e Jair Domingos (in memoriam) que foram meus primeiros professores para a vida me deixando uma inspiração única de batalhar e ser forte em todos os momentos de dificuldades encontrados na vida.

Em especial a minha orientadora, a Dra. Elaine Bortoleti de Araújo por todo direcionamento e inspiração para concretização deste trabalho, por ela não ter me deixado desistir de tudo, quando as coisas não estavam nada favoráveis ela segurou a minha mão, foi me ensinando com paciência, conhecimento, sabedoria e humildade para que eu evoluísse, uma pessoa com o coração tão generoso e bom de um conhecimento e domínio do assunto singular teve o carinho de me guiar com dedicação e muita paciência.

Ao IPEN - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares que me proporcionou a oportunidade da aquisição de conhecimento e titulação, abrindo meus horizontes oferecendo um ambiente propício e estimulante.

Aos colegas da turma IV do programa de mestrado profissional do IPEN que foram parceiros e unidos na busca do aprendizado, foi uma honra ter conhecido e trabalhado com vocês, jamais esquecerei pessoas tão dispostas a ajudar e partilhar conhecimento.

Aos docentes, diretores, coordenadores e administração que dedicaram seu tempo para ciência nos proporcionando grandes lições e desenvolvimento.

Às secretárias Andrea Malavazi e Sabrina Lopes que sempre com muita paciência e disponibilidade esclareceram todas as minhas dúvidas e ajudaram a me situar, seja no cumprimento das regras do programa ou em questões pessoais, pois ao longo desse tempo muitas coisas acontecem conosco. E elas com sabedoria sempre me incentivaram a continuar a realizar meus projetos.

As colegas de sala que estiveram comigo em parceria nos desenvolvimentos de atividades, trabalhos Tatiane Sorribas e Erica Mauricio Policarpo.

Aos meus irmãos Marli, Terezinha, Salete, Janete e Rui que sempre torceram por mim e incentivaram continuar a caminhada e buscar o conhecimento, eles são muito importantes na minha vida sem eles com certeza eu não teria forças para concluir esse projeto.

Aos meus sobrinhos que amo tanto Franciele, Matheus, Maria Alice e Lukas que por momentos tive que deixar de estar com eles para me dedicar a este trabalho.

À Profa Dra Margareth Mie N. Matsuda e a Lorena Pozzo grandes mulheres inspiradoras sinônimos de força, competência e inspiração para minha vida.

A toda equipe técnica do IPEN pela ajuda e por serem grandes incentivadores na minha vida acadêmica e profissional em especial ao sr. Jurandir que com sua paciência e humildade tem o dom de ensinar e nos acolher com tanto carinho, ao Joel Mendes dos Santos que com toda a paciência e técnica me ajudou nos experimentos Flavia e Vanessa que sempre foram muito atenciosas e disposta a me ajudarem em tudo que viabilizasse meu trabalho.

Ao MSc Natanael Gomes da Silva, por entender as necessidades da pesquisa e disponibilizarem o uso dos equipamentos imprescindíveis para o desenvolvimento deste projeto.

As minhas colegas de laboratório Luiza Mascarenhas Balieiro, Maria Renata Valente Brandão Freire, Luana Pereira da Silva que com carinho e disponibilidade sempre me auxiliaram no que fosse necessário sem medirem esforços, tempo e paciência.

Ao meu grande amigo e chefe de tantas datas Dr. Ibevan Arruda Nogueira que sempre me incentivou e apoiou a continuar buscando o conhecimento e que de diversas formas me ajudou para que eu pudesse concluir esse projeto.

Aos membros da Banca Examinadora, por aceitarem o convite Professor Dr. Orlando Rodrigues Junior e Professor Dr. Luís Alberto Pereira Dias, Dra Margareth Mie N. Matsuda, Professor Dr. Fabio Luiz Navarro Marques por avaliarem este trabalho desde as ideias iniciais até a fase final.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), minha gratidão pela oportunidade de desenvolver minha pesquisa em um ambiente de excelência e inovação. A infraestrutura disponibilizada e o suporte técnico a realização deste trabalho.

A todos que de alguma forma, estiveram presentes nesta etapa da minha vida e foram importantes na concretização deste sonho.

## RESUMO

DOMINGOS, M.D. **Estudo da otimização do processo de marcação do peptídeo  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T para aplicação no tratamento do câncer de próstata metastático resistente à castração com base em um conceito teranóstico.** 2024. 109f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo.

Radiofármacos que se ligam especificamente ao antígeno de membrana prostático específico (PSMA) superexpresso nas células cancerígenas, têm apresentado resultados promissores na aplicação teranóstica em pacientes com câncer de próstata resistente à castração. Este trabalho estudou os parâmetros de marcação do peptídeo  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, visando estabelecer as condições operacionais para produção rotineira do radiofármaco no IPEN-CNEN. O estudo envolveu a utilização de lutécio-177 com carregador e os parâmetros estudados foram a razão molar peptídeo:lutécio (3,5 a 4,0), tempo (20 a 40 minutos), temperatura (85 a 95 °C) e pH da marcação (4,4 a 5,0). A utilização de tampão ascorbato de sódio mostrou-se apropriada para manutenção do pH da reação, sendo ainda estabilizante da preparação. Utilizou-se como método de análise o sistema CLAE para analisar a pureza radioquímica e o sistema CCD-SG para analisar a impureza radioquímica. Obteve-se pureza radioquímica dentro dos critérios de aceitação estabelecidos para a análise da preparação ( $\geq 95\%$  do pico principal do espectro de CLAE correspondente ao  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T e  $\leq 3\%$  de  $^{177}\text{Lu}$  livre, determinado em CCD-SG) para todas as faixas de parâmetros estudados, não havendo diferenças significativas entre os resultados de pureza radioquímica observados para os extremos das faixas de cada parâmetro. A partir de tal avaliação, em conjunto com as análises dos perfis de CLAE dos estudos de estabilidade das preparações, definiu-se a condição ideal de marcação e as faixas de trabalho de cada parâmetro crítico do processo. Foram realizadas marcações de doses terapêuticas do radiofármaco empregando-se a condição ideal de radiomarkação, para dois fornecedores internacionais de lutécio-177, que apresentaram pureza radioquímica e estabilidade dentro dos critérios de aceitação, considerando calibração da dose terapêutica e validade de 48 horas, armazenadas sob congelamento, sendo esta a condição empregada pelo IPEN-CNEN para transporte de radiofármacos de categoria terapêutica. O estudo dos parâmetros de marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T considerou a variação dos parâmetros críticos da marcação, dentro de faixas estreitas, de modo a prospectar os limites inferior e superior de cada parâmetro, contribuindo para a definição das condições de marcação na rotina de produção do radiofármaco  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T e criando critérios para a validação do processo produtivo em escala industrial.

**Palavras-chave:**  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T; Lutécio-177, CCD-SG; CLAE; Câncer de próstata.

## ABSTRACT

DOMINGOS, M.D. **Study of the optimization of the labeling process of the  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T for application in the treatment of metastatic castration-resistant prostate cancer based on a theranostic concept.** 2024. 109f. Dissertation (Master in Nuclear Technology), Nuclear and Energy Research Institute, IPEN-CNEN, São Paulo.

Radiopharmaceuticals that specifically bind to prostate-specific membrane antigen (PSMA), overexpressed in cancer cells, have shown promising results in theranostic application in patients with castration-resistant prostate cancer. This work studied the labeling parameters of the PSMA-I&T peptide with lutetium-177, aiming to establish the operational conditions for routine production of the radiopharmaceutical at IPEN-CNEN. The study involved the use of carrier added lutetium-177 and the parameters studied were the peptide:lutetium molar ratio (3.5 to 4.0), time (20 to 40 minutes), temperature (85 to 95 °C) and labeling pH (4.4 to 5.0). The use of sodium ascorbate buffer proved to be appropriate for maintaining the reaction pH, also stabilizing the preparation. The HPLC system was used as an analysis method to analyze radiochemical purity and the CCD-SG system to analyze radiochemical impurities. Radiochemical purity was obtained within the acceptance criteria established for the analysis of the preparation ( $\geq 95\%$  of the main peak of the HPLC spectrum corresponding to  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T and  $\leq 3\%$  of free  $^{177}\text{Lu}$ , determined on TLC-SG), for all ranges of parameters studied, with no significant differences between the radiochemical purity results observed for the extremes of the ranges of each parameter. Based on this assessment, together with the analyses of the HPLC profiles of the stability studies of the preparations, the ideal labeling condition and the working ranges of each critical parameter of the process were defined. Therapeutic doses of the radiopharmaceutical were labeled using the ideal radiolabeling condition for two international suppliers of lutetium-177, which presented radiochemical purity and stability within the acceptance criteria, considering calibration of the therapeutic dose and validity of 48 hours, stored under freezing, which is the condition used by IPEN-CNEN for the transportation of therapeutic category radiopharmaceuticals. The study of the labeling parameters of PSMA-I&T with lutetium-177 considered the variation of the critical labeling parameters within narrow ranges, in order to prospect the lower and upper limits of each parameter, contributing to the definition of the labeling conditions in the production routine of the radiopharmaceutical  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T and creating criteria for the validation of the production process on an industrial scale.

**Key words:**  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T; Lutetium-177, CCD-SG; HPLC; Prostate cancer.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem adaptada - estatísticas do número de casos de câncer.....	19
Figura 2 - Imagem adaptada – esquema sobre a formação do câncer e a migração de metástases...	20
Figura 3 - Próstata normal e próstata com câncer.....	22
Figura 4 - Estrutura molecular de inibidores de PSMA baseados em ureia.....	28
Figura 5 - Grupo farmacofórico Glutamato-Ureia-Lisina.....	28
Figura 6 - Estrutura química de <sup>68</sup> Ga-PSMA-11.....	31
Figura 7 - Estrutura química do traçador PET <sup>18</sup> F-PSMA-1007.....	32
Figura 8 - Estrutura química do PSMA-617.....	34
Figura 9 - Estrutura química do PSMA-I&T.....	36
Figura 10 - Imagem adaptada da estrutura molecular do PSMA-I&T radiomarcado com <sup>177</sup> Lu e o sítio de ligação do antígeno de membrana específico da próstata (PSMA).....	37
Figura 11 - Cubas de Cromatografia em Camada Delgada de Sílica Gel (CCD-SG) – corridas em triplicata.....	51
Figura 12 - Gráfico de Porcentagem de lutécio-177 livre nas preparações de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T em TLC-SG: avaliação da influência do pH do tampão.....	54
Figura 13 - Gráfico Resultados de porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência do pH de marcação.....	55
Figura 14 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T em tampão pH 4,4: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	56
Figura 15 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T em tampão pH 4,7: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	57
Figura 16 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T em tampão pH 5,0: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	58
Figura 17 - Gráfico Porcentagem de lutécio-177 livre nas preparações de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T em TLC-SG: avaliação da influência da razão molar (RM) PSMA-I&T:Lu.....	60
Figura 18 - Gráfico Resultados de porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência da razão molar (RM) PSMA-I&T:Lu.....	61
Figura 19 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T na razão molar PSMA-I&T:Lu de 3,0: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	62
Figura 20 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T na razão molar PSMA-I&T:Lu de 3,5: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	63
Figura 21 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T na razão molar PSMA-I&T:Lu de 3,8: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	64
Figura 22 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T na razão molar PSMA-I&T:Lu de 4,0: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	65

Figura 23 - Gráfico Porcentagem de lutécio-177 livre nas preparações de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T em TLC-SG: avaliação da influência do tempo de marcação.....	68
Figura 24 – Gráfico Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência do tempo de marcação.....	69
Figura 25 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T no tempo de 20 minutos: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	70
Figura 26 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T no tempo de 30 minutos: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	71
Figura 27 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T no tempo de 40 minutos: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	72
Figura 28 - Gráfico Porcentagem de lutécio-177 livre nas preparações de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T em TLC-SG: avaliação da influência da temperatura de marcação.....	74
Figura 29 - Gráfico Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência da temperatura de marcação.....	75
Figura 30 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T na temperatura de 85°C: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	76
Figura 31 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T na temperatura de 87°C: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	77
Figura 32 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T na temperatura de 90°C: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	78
Figura 33 - Espectro de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T na temperatura de 95°C: Imediato; 24 horas; 48 horas.....	79
Figura 34 - Gráfico Evolução da %PR em CLAE (% pico principal) – estudo de estabilidade das doses terapêuticas para dois fornecedores de Lu-177 (A e B) .....	81
Figura 35 - Espectros de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T – dose terapêutica: Imediato; 24 horas; 48 horas (armazenado congelado) .....	83
Figura 36 - Espectros de CLAE da marcação de <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T – dose terapêutica: 1 a 6 horas após descongelamento (armazenado em câmara climática a 30°C e 35% de umidade) .....	84

## TABELAS

Tabela 1 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR) do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CCD-SG (TLC-SG): avaliação da influência do pH de marcação .....	53
Tabela 2 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência do pH de marcação.....	54
Tabela 3 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR) do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CCD-SG (TLC-SG): avaliação da influência da razão molar (RM) PSMA-I&T:Lu.....	60
Tabela 4 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência da razão molar (RM) PSMA-I&T:Lu .....	61
Tabela 5 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR) do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CCD-SG (TLC-SG): avaliação da influência do tempo de marcação.....	67
Tabela 6 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência do tempo de marcação.....	68
Tabela 7 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR) do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CCD-SG (TLC-SG): avaliação da influência da temperatura de marcação.....	74
Tabela 8 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência da temperatura de marcação.....	75
Tabela 9 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE (% pico principal) e por CCD-SG (% de $^{177}\text{Lu}$ livre): estudo de estabilidade.....	81
Tabela 10 - Síntese dos resultados de outros autores X resultados do presente trabalho.....	89

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	16
2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA.....	18
2.1 Objetivo geral.....	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
2.3 Justificativa e impacto .....	18
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	19
3.1. CÂNCER DE PRÓSTATA .....	19
3.1.1. Sintomas da doença .....	21
3.1.2. Classificação do estadiamento do câncer de próstata .....	22
3.1.3. Proposta de tratamento do câncer de próstata.....	22
3.1.4. Marcadores associados ao câncer de próstata.....	23
3.2. RADIOFÁRMACOS UTILIZADOS NA MEDICINA NUCLEAR PARA DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO CÂNCER DE PRÓSTATA .....	23
3.2.1. Radiofármacos utilizados na medicina nuclear – aplicações em diagnóstico e terapia – conceito teranóstico .....	23
3.2.2. Terapia radioisotópica .....	25
3.2.3. Antígeno de membrana prostático específico (PSMA) .....	26
3.2.4. Desenvolvimento de moléculas PSMA-específicas .....	27
3.2.4.2. <sup>18</sup> F-PSMA-1007 .....	32
3.2.4.3. PSMA-617 .....	33
3.2.4.4. <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T.....	35
3.2.5. Seleção do radioisótopo.....	38
3.2.6. Lutécio 177 ( <sup>177</sup> Lu).....	39
4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	41
5. MATERIAIS.....	43
5.1. Infraestrutura .....	43
5.2. Reagentes e soluções utilizados .....	44
6. MÉTODOS .....	45
6.1 Condição padrão de marcação do <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T.....	45
6.2 Estudo dos parâmetros de marcação do <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T.....	46
6.2.1 Variação de razão molar de marcação do <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T .....	46
6.2.2 Variação de temperatura de marcação do <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T .....	46
6.2.3 Variação de pH de marcação do <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T .....	47
6.2.4 Variação de tempo de marcação do <sup>177</sup> Lu-PSMA-I&T .....	48

6.3. Marcação de $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T para obter dose terapêutica.....	49
6.4. Desenvolvimento dos métodos de controle de qualidade de pureza radioquímica .....	50
a) Cromatografia em camada delgada de sílica gel (CCD-SG).....	51
b) Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) .....	52
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	53
7.1 Avaliação da influência do parâmetro pH na marcação do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T.....	53
7.2 Avaliação da influência do parâmetro razão molar na marcação do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T.....	60
7.3 Avaliação da influência do parâmetro tempo na marcação do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T.....	67
7.4 Avaliação da influência do parâmetro temperatura na marcação do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T.....	74
7.5 Marcação de dose terapêutica empregando condições otimizadas e avaliação da estabilidade .....	80
7.6 Discussão.....	84
8. CONCLUSÃO .....	90
9. REFERÊNCIAS.....	91

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\alpha$	Constante de distribuição; radiação alfa
$\beta$	Constante de eliminação; radiação beta
$\gamma$	Radiação gama
% AI	Porcentagem de atividade injetada
% AI/g	Porcentagem de atividade injetada por grama de tecido
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AUC	Area under the curve (Área sob a curva)
BFC	Bifunctional chelator (Quelante bifuncional)
CEBIO	Centro de Biotecnologia
CCD-SG	Cromatografia de camada delgada de sílica gel
CL	Clearance (Depuração)
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
cm	Centímetro
cpm	Contagens por minuto
CR	Centro de Radiofarmácia
CT	Tomografia computadorizada
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DTPA	Ácido dietileno-triamino-pentacético
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FDG	Fluordesoxiglicose
g	Gramas
IPBU	Inibidor de PSMA baseado em ureia
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IPEN	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
Kel	Constante de eliminação
keV	kilo elétron-Volt
Kg	Kilograma
L	Litro
log	Logarítimo
log P	Logarítimo do coeficiente de partição
$^{177}\text{Lu}$	Lutécio-177
M	Molar
MBq	Megabecquerel
mCi	Milicurie

<b>mCRPC</b>	<i>metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer</i> (Câncer de Próstata Metastático Resistente à Castração)
<b>MeV</b>	Mega eletron-Volt
<b>mg</b>	Miligrama
<b>min</b>	Minuto (s)
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mm</b>	Milímetro
<b>N</b>	Normal
<b>n</b>	Número
<b>PET</b>	Emissão de pósitrons por tomografia
<b>I&amp;T</b>	Imagem e Terapia
<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>PR</b>	Pureza radioquímica
<b>PSA</b>	<i>Prostate Specific Antigen</i> (Antígeno Prostático Específico)
<b>PSMA</b>	<i>Prostate Specific Membrane Antigen</i> (Antígeno de membrana prostático específico)
<b>RM</b>	Razão molar
<b><sup>177</sup>Lu-PSMA-I&amp;T</b>	Peptídeo PSMA-I&T radiomarcado com <sup>177</sup> Lu
<b>Rf</b>	Fator de retenção
<b>RM</b>	Ressonância magnética
<b>rpm</b>	Rotações por minuto
<b>SBMN</b>	Sociedade Brasileira de Medicina Nuclear
<b>SPECT</b>	<i>Single Photon Emission Computer Tomography</i> (Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton)
<b>t<sub>1/2</sub></b>	Meia vida
<b>TAB</b>	Tabela
<b>CFF</b>	Conselho Federal de Farmácia
<b>UV</b>	Ultra violeta
<b>v/v</b>	Volume por volume
<b>Vd</b>	Volume de distribuição
<b>μCi</b>	Microcurie
<b>μg</b>	Micrograma
<b>μL</b>	Microlitro
<b>μm</b>	Micrômetro

## 1. INTRODUÇÃO

O CP - câncer de próstata afeta homens predominantemente na idade entre 45 e 60 anos, sendo a doença com maior índice de diagnóstico entre os homens no mundo. O Instituto Nacional do Câncer (INCA), estima que até 2040 mais de 178 mil novos casos de câncer de próstata surgirão no Brasil. Em números será a terceira neoplasia com mais casos, sendo a principal neoplasia em homens e conseqüentemente uma das principais causas de morte, evidenciando um problema de saúde pública.<sup>1</sup>

Diante desse cenário a medicina nuclear (MN) traz relevante contribuição no diagnóstico por imagem (cintilografia) sendo evidente a evolução de engenharia e da tecnologia de equipamentos. No mesmo sentido a evolução do teranóstico com o desenvolvimento de novos radiofármacos que possibilitam caminhos que propiciam a sobrevida, qualidade e o aumento de expectativa de vida de pacientes com CA de próstata metastático resistente à castração (mCRPC)<sup>2</sup>.

O diagnóstico por imagem é realizado com radiofármacos que possuem radioisótopos emissores gama ou emissores de pósitrons ( $\beta^+$ ) cujos fótons, ao saírem do corpo do paciente, são captados pelos detectores de equipamentos específicos empregados na medicina nuclear como SPECT (Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton único) e PET (Emissão de pósitrons por tomografia)<sup>3</sup>.

No conceito teranóstico, uma mesma molécula pode ser radiomarcada com radionuclídeos com finalidades diagnóstica e terapêutica. No caso da terapia, o radionuclídeo deve emitir partículas com faixa de energia de alcance curto e grande poder de ionização do meio, como as partículas beta menos ( $\beta^-$ ) ou alfa ( $\alpha$ ), visando a destruição das células tumorais. Além das características do radionuclídeo, somam-se a especificidade da molécula transportadora que tem características, como por exemplo, a velocidade de absorção, o tempo de retenção pelo tecido alvo, entre outras<sup>4</sup>.

O PSMA (antígeno de membrana específico de próstata) aparece elevado nos estágios avançados do CA de próstata, tornando-se um alvo interessante para o desenvolvimento de radiofármacos receptor-específicos<sup>5</sup>. Vários estudos foram desenvolvidos ao longo do tempo para obter-se moléculas ligantes específicas do PSMA, como por exemplo, PSMA-11, PSMA-1007, PSMA-617, PSMA-I&S, PSMA-I&T entre outras<sup>6 7 8 9 10 11</sup>.

A contribuição da MN na abordagem teranóstica emprega radiofármacos especificamente do PSMA direcionada ao diagnóstico por imagem em equipamentos híbridos de PET, dispondo de ligantes de PSMA marcados com radionuclídeos emissores de pósitron, como o Gálio-68 (<sup>68</sup>Ga-PSMA-11) ou Flúor-18 (<sup>18</sup>F-PSMA-1007), que se ligam a esse receptor que se encontra

superexpresso na superfície das células do mCRPC<sup>99</sup>. Da mesma forma, tem auxiliado no tratamento dos pacientes que evoluem para mCRPC (Câncer de Próstata Metastático Resistente à Castração) com radiofármacos PSMA-específicos, obtidos a partir da radiomarcção de derivados PSMA com emissores  $\beta$ - como o lutécio-177 (PSMA-617-<sup>177</sup>Lu, <sup>177</sup>Lu-PSMA-I&T) ou emissores alfa, como o actínio-225 e bismuto-212<sup>100</sup>.

Atualmente, a aplicação de radiofármacos PSMA-específicos radiomarcados com emissores de pósitrons na técnica diagnóstica de PET está consagrada para o diagnóstico, estadiamento e acompanhamento da eficácia terapêutica de pacientes com mCRPC. Os resultados promissores dos estudos clínicos realizados com derivados PSMA marcados com radionuclídeos emissores beta e alfa, no mesmo grupo de pacientes, estimulam o desenvolvimento de técnicas de radiomarcção para promover a disponibilização deste tipo de radiofármaco pelo IPEN, em benefício do tratamento de pacientes com câncer de próstata.

## 2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

### 2.1 Objetivo geral

O objetivo do trabalho é determinar as melhores condições para marcação do peptídeo  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T.

### 2.2 Objetivos específicos

- ✓ Estudar os parâmetros de marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T tais como: temperatura, pH, tempo e razão molar peptídeo:lutécio;
- ✓ Avaliar o impacto da variação dos parâmetros na estabilidade das marcações;
- ✓ Consolidar os métodos cromatográficos de controle de qualidade (CQ) da pureza radioquímica.

### 2.3 Justificativa e impacto

Visto que a incidência de CP vem aumentando, e por ser uma doença com possível progressão de metástases e resistência ao tratamento aplicado, a busca por novas terapias seguras e com menor taxa de toxicidade representa um desafio na área de Radiofarmácia.

A medicina nuclear vem com a aplicação do teranóstico que abrange uma abordagem completa e personalizada ao paciente favorecendo um tratamento direcionado e preciso. Pesquisas em artigos e publicações recentes, sobre a aplicação da molécula de PSMA-I&T marcada com lutécio-177 na MN demonstraram resultados satisfatórios, evidenciando os impactos positivos dentro da proposta da busca de novas terapias efetivas para pacientes com câncer de próstata metastático resistente à castração (mCRPC). O presente trabalho tem por objetivo contribuir para a demonstração da viabilidade e eficácia dessa abordagem, abrindo oportunidades para o desenvolvimento e aplicação clínica do radiofármaco  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, sendo que o progresso nesse campo pode contribuir muito para a evolução das opções terapêuticas disponíveis para pacientes com mCRPC.

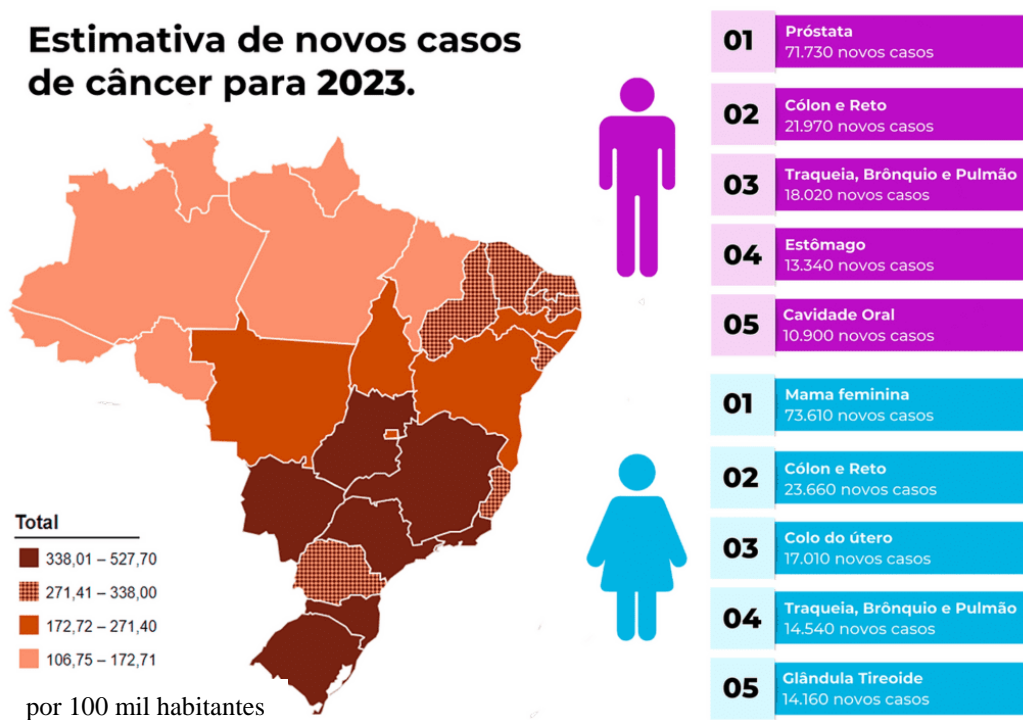
### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. CÂNCER DE PRÓSTATA

O Câncer (CA) é uma doença milenar, relatada por Hipócrates em 460-370 a.c., descrito em papiros egípcios em 1500 a.c., que descrevera o câncer de mama, nestes relatos foram descritas técnicas cirúrgicas que se assemelham às técnicas utilizadas nos dias hoje para remoção do tumor<sup>24</sup>.

No Brasil para cada ano do triênio 2023-2025 são esperados 704 mil casos novos de câncer, sendo o CA de próstata o de maior prevalência, com 71.730 novos casos (figura 1)<sup>1</sup>.

**Figura 1 - Imagem adaptada - estatísticas do número de casos de câncer<sup>1</sup>**



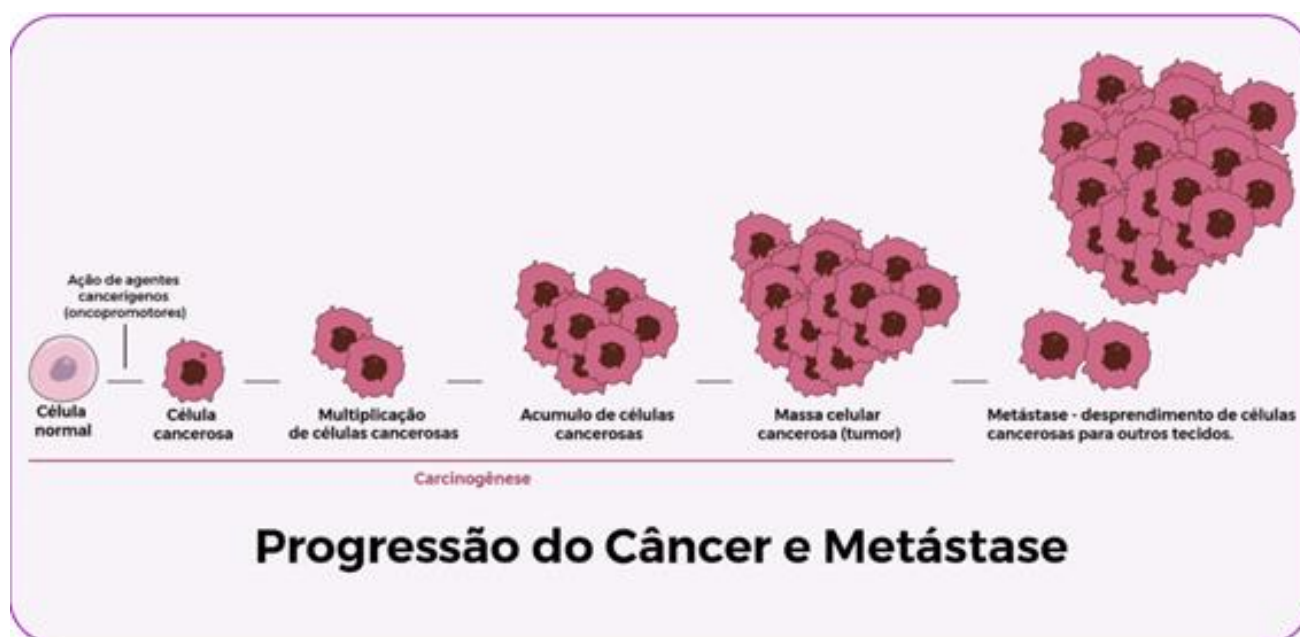
Fonte: INCA

Muitos fatores contribuem para o desenvolvimento do CP, segundo o INCA<sup>1</sup> o desenvolvimento do câncer de próstata pode estar relacionado à: estresse do dia a dia, o tabagismo, o uso excessivo de álcool a longo prazo, alimentação inadequada, dietas (rica em carne vermelha e pobre em frutas), baixas concentrações de vitamina D e cálcio, obesidade, a exposição a agentes carcinogênicos, influências ambientais, histórico familiar, predisposição genética, idade superior a 50 anos, falta de consultas médicas periódicas, Rawla<sup>101</sup>, por sua vez, elenca a etnia como outro fator,

tendo em vista que os africanos tem uma pré disposição maior em desenvolver a doença em relação outras raças.

A evolução da doença pode ser de forma rápida ou lenta sendo responsável pela disseminação de metástases ósseas e/ou viscerais (figura 2)<sup>25</sup> variando em cada indivíduo. Logo a estimativa de sobrevida é de aproximadamente cinco anos para o câncer de próstata quando diagnosticado no início da doença<sup>1</sup>.

**Figura 2 - Imagem adaptada – esquema sobre a formação do câncer e a migração de metástases<sup>124</sup>**



Fonte: A.C. Camargo – Tipos de Câncer

Segundo a Sociedade Brasileira de Urologia (SBU), o monitoramento e diagnóstico dos pacientes deve ser feito por meio dos níveis plasmáticos de PSA, para adultos e jovens, os valores de referência estão entre 2 – 3 ng/mL. Valores de PSA superiores ao preconizado e/ou alteração da consistência prostática pelo toque são indicativos para a realização de biópsia.<sup>26</sup>

O exame de toque retal é outra ferramenta utilizada na prevenção e diagnóstico, com o qual se analisa a consistência da próstata e a presença de massa pétreia evidencia suspeita da doença.

Na área da radiologia, há uma gama de tecnologias de imagem, incluindo ultrassonografia e tomografia computadorizada, são amplamente utilizadas para detecção de anormalidades anatômicas da próstata. Diversos procedimentos de MN também foram desenvolvidos no passado para detecção do CP. A vantagem dos procedimentos de MN é que esses métodos avaliam as

anormalidades funcionais e anatômica <sup>43,26</sup>.

Exames de imagem como a ultrassonografia tem como objetivos avaliar a morfologia da próstata e auxiliar no diagnóstico diferenciando dos tecidos considerados “próstata normal” ou da hiperplasia prostática benigna ou de câncer de próstata com alto grau de identificação de regiões internas da próstata. O profissional médico capacitado a partir dos exames referenciados fará a avaliação correta e indicação para confirmação da doença <sup>26</sup>.

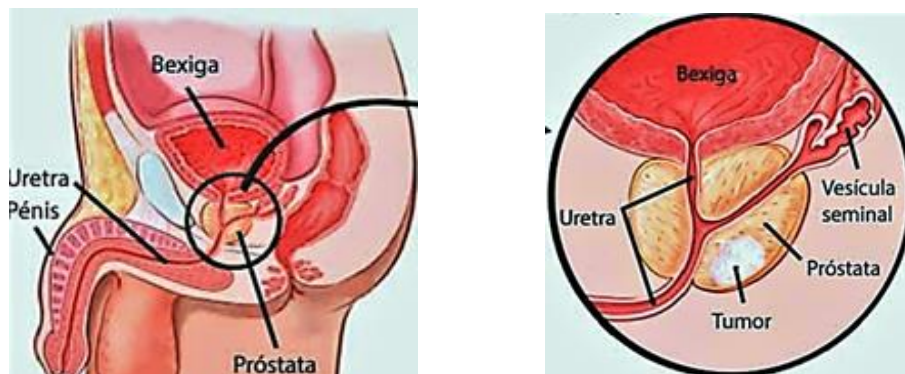
Por volta da década de 90 iniciou-se o uso de valores de PSA como referência para o diagnóstico da próstata como parâmetro para a conduta médica relativas ao tratamento do tumor, permitindo intervenções adjuvantes (complementares) tais como, radioterapia e/ou hormônio-terapia precoce, cuja eficácia tem índices altos de cura ou sobrevida do paciente <sup>27</sup>.

Porém, os métodos de diagnóstico iniciais mais frequentes utilizados são a dosagem do antígeno prostático específico (PSA) e o toque retal, e posteriormente são realizados exames de imagem e biopsia prostática transretal para confirmação<sup>1</sup>.

### **3.1.1. Sintomas da doença**

No início da doença, o câncer de próstata é assintomático, depende de cada indivíduo, alguns tem dificuldade ao urinar devido o estreitamento da uretra, aumento da frequência da micção que ocorre devido a morfologia aumentada da próstata, diminuição da quantidade de urina em cada micção, redução da força ou do calibre do jato da urina, dor ou ardência ao urinar, sensação de esvaziamento incompleto da bexiga após urinar, presença de sangue no sêmen ou na urina, ejaculação dolorosa (figura 3). Nos estágios mais avançados, os sintomas são: dor na estrutura anatômica, disseminação de metástases em estágio mais avançado (normalmente metástases ósseas), que provoca dor na coluna e pelve, perda de apetite devido as dores constantes, causando perda de peso, perda pelo interesse da atividade sexual devido ao constrangimento de sangramento na ejaculação, entre outros <sup>28</sup>.

**Figura 3 - Próstata normal e próstata com câncer. Próstata normal (esquerda) sem estreitamento da uretra e Próstata com câncer (direita) apresentando estreitamento da uretra, por isso tantos sintomas em relação a micção<sup>125</sup>**



### 3.1.2. Classificação do estadiamento do câncer de próstata

No ano de 1966 o patologista Donald Gleason, descreveu o primeiro sistema de classificação do estadiamento do câncer de próstata de acordo com a histopatologia. A partir daí o câncer de próstata recebe classificações específicas em graus de 1 a 5<sup>29</sup>:

- Grau 1 significa tecido sadio;
- Grau 2 indica aumento no espaço entre as células prostáticas;
- Grau 3 tem células neoplásicas infiltrada com algum grau de diferenciação;
- Grau 4 as células neoplásicas estão aglomeradas com poucas células sadias;
- Grau 5 tem apenas células neoplásicas aglomeradas, com grande espaço intersticial e necrose.

### 3.1.3. Proposta de tratamento do câncer de próstata

Atualmente há várias opções terapêuticas para o câncer de próstata que incluem cirurgia, quimioterapia, crioterapia, radioterapia, braquiterapia com sementes radioativas. A terapia radiosotópica tem sido muito bem-vinda diante das pesquisas recentes na química dos radiofármacos, espera-se que o papel da medicina nuclear para o diagnóstico e terapia do câncer de próstata cresça significativamente no futuro<sup>6, 35</sup>.

### 3.1.4. Marcadores associados ao câncer de próstata

As informações moleculares relacionadas a diferentes tipos de câncer podem ser coletadas por técnicas de diagnóstico *in vitro* ou *in vivo*, medindo os níveis de certas biomoléculas que são produzidas em níveis substancialmente maiores do que o normal. Essas biomoléculas são chamadas marcadores de câncer, marcadores tumorais ou simplesmente biomarcadores, pois são produzidas pelo tumor ou por outras células em resposta à presença do tumor. Os marcadores de câncer são representados por diferentes categorias, que incluem proteínas, peptídeos, hormônios, enzimas e carboidratos<sup>45</sup>.

Alguns desses marcadores de câncer são excretados e podem ser encontrados no sangue, urina ou outros fluidos corporais, permitindo que a mensuração *in vitro* dos níveis desses marcadores seja utilizada para o diagnóstico e prognóstico do câncer. No entanto, esses tipos de marcadores de câncer não são úteis para o desenvolvimento de radiofármacos específicos, pois sua presença em regiões não alvo resultará em imagens de baixa qualidade e complicações na terapia radionuclídica<sup>45</sup>.

Os marcadores de câncer que são superexpressos em superfícies de células tumorais, mas não são excretados na corrente sanguínea em níveis significativos, são os preferidos para o desenvolvimento de novos radiofármacos, tanto para o diagnóstico como para a terapia do câncer<sup>45</sup>.

Existem muitos biomarcadores associados ao câncer de próstata. O antígeno prostático específico (PSA) é um dos principais marcadores utilizados para o diagnóstico *in vitro* do câncer de próstata, porém é excretado para a circulação sanguínea<sup>46</sup>. O antígeno de membrana prostático específico (PSMA) não é excretado na circulação sanguínea e está sendo utilizado como alvo molecular para aplicações *in vivo* de diagnóstico e terapia do câncer de próstata<sup>47</sup>.

## 3.2. RADIOFÁRMACOS UTILIZADOS NA MEDICINA NUCLEAR PARA DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO CÂNCER DE PRÓSTATA

### 3.2.1. Radiofármacos utilizados na medicina nuclear – aplicações em diagnóstico e terapia – conceito teranóstico

Com a descoberta dos raios X e da radioatividade no final do século XIX, desenvolveu-se a área denominada hoje como física médica<sup>12</sup>, que segundo a Associação Brasileira de Física Médica<sup>102</sup> aborda as modalidades de radiodiagnóstico (RD), radioterapia (RT) e medicina nuclear (MN) tendo em comum o uso de radiações ionizantes, assim como os sucessos das aplicações das radiações<sup>13</sup>.

A medicina nuclear é uma especialidade multidisciplinar que combina conhecimentos da física, matemática, química, computação e medicina na utilização de materiais radioativos, ou radiofármacos, para diagnosticar e tratar doenças<sup>21</sup>.

Em 1896 o químico francês Henri Becquerel (1852-1908) descobriu um minério de urânio que deu início a história da medicina nuclear. Em 1898, Marie Curie e seus colaboradores isolaram dois elementos o polônio e o rádio. Em 1899, madame Curie sugeriu que os átomos de determinadas substâncias emitem raios incomuns quando se desintegram e chamou esse fenômeno de radioatividade<sup>23</sup>.

Na medicina nuclear, diferentes radioisótopos têm sido utilizados no decorrer do tempo, sendo alguns para aplicação terapêutica e outros para o diagnóstico por imagem. Exemplos de alguns radioisótopos aplicados na terapia radionuclídica são o iodo-131, primeiro radioisótopo empregado no Brasil no diagnóstico e terapia de patologias da glândula tireoide<sup>14</sup> e, mais recentemente, o lutécio-177, tema deste trabalho, que vem sendo bastante explorado no desenvolvimento de radiofármacos alvo-dirigidos para terapia radionuclídica<sup>63</sup>. Quanto à aplicação diagnóstica, o radionuclídeo emissor gama tecnécio-99m é o elemento radioativo mais empregado na obtenção de imagens cintilográficas em câmara gama e SPECT (*Single Photon Emission Computer Tomography*) e radioisótopos emissores de pósitrons como o Fluor-18 e Galio-68, destacam-se na aquisição de imagens na PET (Emissão de pósitrons por tomografia)<sup>14</sup>.

Os radioisótopos utilizados na medicina nuclear são produzidos artificialmente por aceleradores de partículas/ciclotrons, como o fluor-18, em geradores de radionuclídeos, com o tecnécio-99m e o galio-68, e em reatores nucleares, como o iodo-131 e o lutécio-177<sup>63</sup>.

Na estrutura dos radiofármacos, as moléculas que se ligam ao radionuclídeo são responsáveis pelo direcionamento do radiofármaco ao alvo, através de mecanismos de ação próprios. A fludesoxiglicose (<sup>18</sup>F-FDG), largamente aplicada na PET para o diagnóstico e estadiamento de pacientes com diferentes tipos de câncer, considerando-se o mecanismo de captação aumentada de glicose pelas células tumorais. Diversos radiofármacos PSMA-específicos vêm sendo utilizados em aplicações diagnóstica e terapêutica, considerando-se o mecanismo de ligação específica destes radiofármacos aos receptores PSMA, super expressos em células de tumor de câncer de próstata. Neste caso, o ligante PSMA direciona os radiofármacos para as células da próstata<sup>63</sup>.

De acordo com Farmacopeia Brasileira radiofármacos são preparações farmacêuticas com finalidade diagnóstica ou terapêutica que, quando prontas para o uso, contêm um ou mais radionuclídeos. Os radiofármacos compreendem, também, os componentes não-radioativos para

marcação e os radionuclídeos, incluindo os componentes extraídos dos geradores de radionuclídeos<sup>103</sup>.

Para a medicina nuclear os radiofármacos são substâncias com preparações farmacêuticas (ligante ou carregador, que se liga especificamente à molécula ou sítio alvo) e o radioisótopo ou radionuclídeo (substância radioativa), quando prontas essas substâncias são administradas no paciente de acordo com a aplicação desejada seja diagnóstica ou terapêutica.<sup>16</sup>

A radiofarmácia é uma especialidade farmacêutica cujas principais funções são o desenvolvimento, manipulação, produção, controle de qualidade, garantia da qualidade e outros aspectos correlacionados aos radiofármacos empregados em medicina nuclear<sup>16</sup>.

### **3.2.2. Terapia radioisotópica**

A terapia para tratar neoplasias no estágio inicial e no seu desenvolvimento tem sido um objetivo constante da classe médica e pesquisas envolvidas, para o desenvolvimento de novas moléculas, fármacos receptor-específicos acoplados a radioisótopos, toxinas ou agentes quimioterápicos e anticorpos que agem contra biomoléculas da célula tumoral, utilizados em terapia molecular, tudo isso para aprimorar o tratamento e dar uma qualidade de vida melhor aos indivíduos<sup>62</sup>.

O aprimoramento de técnicas de síntese de proteínas recombinantes e os avanços no entendimento da biologia de tumores conduziram a uma evolução na pesquisa e na aplicação clínica da terapia radioisotópica principalmente com a evolução de receptor específico com radioisótopos e fármacos com atividade terapêutica intrínseca ou carrear um agente citotóxico para a celular tumoral alvo<sup>36</sup>.

A terapia radioisotópica envolve a utilização de uma molécula radiomarcada que conduz seletivamente um nível citotóxico de radiação ao sítio tumoral. O objetivo da técnica é maximizar a dose de radiação absorvida pelo tumor e reduzir ao mínimo a irradiação dos órgãos sadios. Além do efeito terapêutico, a utilização de radioisótopos pode permitir a aquisição de imagem do radioligante acumulado no tumor e fornece informações úteis a respeito de sua interação e características bioquímicas das células tumorais<sup>30</sup>.

A terapia com radioisótopo vem sendo utilizada em pacientes há mais de oitenta anos na MN, com a aplicação clínica do radiofármaco iodeto de sódio (<sup>131</sup>I) no tratamento de hipertireoidismo e carcinoma de tireoide<sup>14</sup>.

O conceito teranóstico evoluiu para a aplicação de biomoléculas, com mecanismos de ligação

específicos às células tumorais, como é o caso dos derivados de somatostatina radiomarcados. O primeiro radiofármaco aprovado para obtenção de imagens de tumores neuroendócrinos que expressam receptores para somatostatina foi o octreotídeo-DTPA-<sup>111</sup>In (DTPA –Ácido Pentético), (DTPA-OCT-<sup>111</sup>In, OctreoScan)<sup>104</sup>, posteriormente substituído por derivados radiomarcados com galio-68 (DOTATATE-<sup>68</sup>Ga)<sup>105</sup> e fluor-18 (F18)<sup>105</sup> (para imagem PET) e tecnécio-99m (HYNIC-TOC e HYNIC-TATE) (para imagem SPECT)<sup>14</sup>.

O conceito teranóstico foi aplicado, neste caso, a partir do desenvolvimento e aplicação clínica exitosa de radiofármacos derivados de somatostatina radiomarcados com emissores de partículas  $\beta^-$ , como o itrio-90 (DOTATOC-<sup>90</sup>Y)<sup>35</sup> e lutécio-177 (DOTATATO-<sup>177</sup>Lu)<sup>106</sup> e, mais recentemente, com emissores  $\alpha$ , como o actínio-225 (DOTATATO-<sup>225</sup>Ac)<sup>107</sup>

A substituição do radioisótopo <sup>90</sup>Y do DOTATOC, por <sup>177</sup>Lu para tratamento desses tumores, confere menor mielotoxicidade e nefrotoxicidade, promovendo uma maior sobrevida dos pacientes<sup>37</sup>.

### 3.2.3. Antígeno de membrana prostático específico (PSMA)

O antígeno de membrana prostático específico (PSMA) é uma glicoproteína tipo II transmembrânica, enquanto o PSA que é uma proteína livre no sangue, de 750 aminoácidos, sendo que grande parte deles representa seu domínio extracelular<sup>48</sup>.

O PSMA existe em monômeros e dímeros, sendo que esta é a conformação necessária para suas atividades enzimáticas na superfície celular, e possui a característica de ser internalizado. O PSMA tem a função de transportador transmembrânico para um ligante ainda não identificado, justamente por sua internalização ser muito semelhante à endocitose mediada por receptores endógenos<sup>49</sup>.

Em razão de seus possíveis papéis na malignidade destas, assim como na angiogênese de tumores sólidos o PSMA ser superexpresso em praticamente todas as neoplasias da próstata, e sua expressão em tecidos extra prostáticos ser altamente restrita, ele representa um ótimo alvo para novos métodos de diagnóstico por imagem e terapia antineoplásica<sup>48</sup>. Diante disso, linhagens celulares que expressam PSMA foram desenvolvidas para avaliar a especificidade de diferentes ligantes, tais como as células de carcinoma prostático humano (LNCaP)<sup>50</sup>.

### 3.2.4. Desenvolvimento de moléculas PSMA-específicas

O desenvolvimento de um radiofármaco efetivo para terapia com radioisótopo envolve, além das considerações de localização e tamanho do tumor, a correta seleção de seus dois componentes: o radioisótopo e a molécula carreadora. Dessa forma, se faz necessário unir um agente com comportamento biológico efetivo para a classe de tumor que se deseja tratar a um radioisótopo com propriedades físicas adequadas para utilização *in vivo*, cujas propriedades químicas permitam sua ligação à molécula<sup>39</sup>.

No desenvolvimento da molécula carreadora, componente do radiofármaco que irá direcionar o radioisótopo para o tumor, pequenos peptídeos têm sido utilizados com frequência em substituição aos anticorpos monoclonais. Por apresentarem menor tamanho, essas moléculas são eliminadas do sangue e dos tecidos sadios mais rapidamente. Além disso, seu baixo peso molecular leva a penetração mais rápida e internaliza ao tumor. Os peptídeos são menos imunogênicos que as proteínas, tornando possível um esquema terapêutico que envolva a administração de múltiplas doses<sup>40</sup>.

A maioria dos peptídeos em estudo para aplicação em terapia radioisotópica são peptídeos regulatórios e ainda que seus receptores sejam encontrados em maior densidade nas células tumorais, eles são também encontrados em tecidos normais. Portanto, esses peptídeos regulatórios podem causar efeitos fisiológicos em baixas concentrações, o que torna importante a adoção de uma metodologia de marcação que assegure alta atividade radioativa para massas de peptídeos da ordem de nano ou pico gramas.<sup>40</sup>

Diversos peptídeos regulatórios apresentam alta afinidade por células tumorais, geralmente por superexpressarem seus receptores, permitindo uma melhor visualização do tumor no reflexo da imagem cintilográfica e a aquisição em um menor intervalo de tempo após a administração, em razão do rápido clareamento sanguíneo dessas moléculas. Esse mesmo peptídeo, quando radiomarcado com um emissor beta atuará também como agente terapêutico do tumor primário e de possíveis sítios metastáticos<sup>41</sup>.

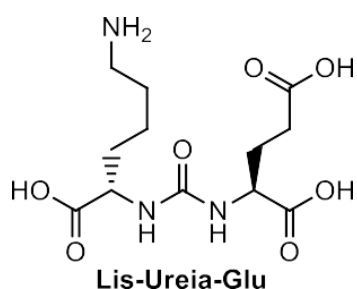
Dentre os peptídeos utilizados como molécula carreadora, podemos citar os inibidores de PSMA baseados em ureia de baixo peso molecular, os quais estão sendo amplamente estudados para o diagnóstico e tratamento do câncer de próstata.<sup>42</sup>

Diferentes inibidores do PSMA de baixo peso molecular e radiomarcados com lutécio-177

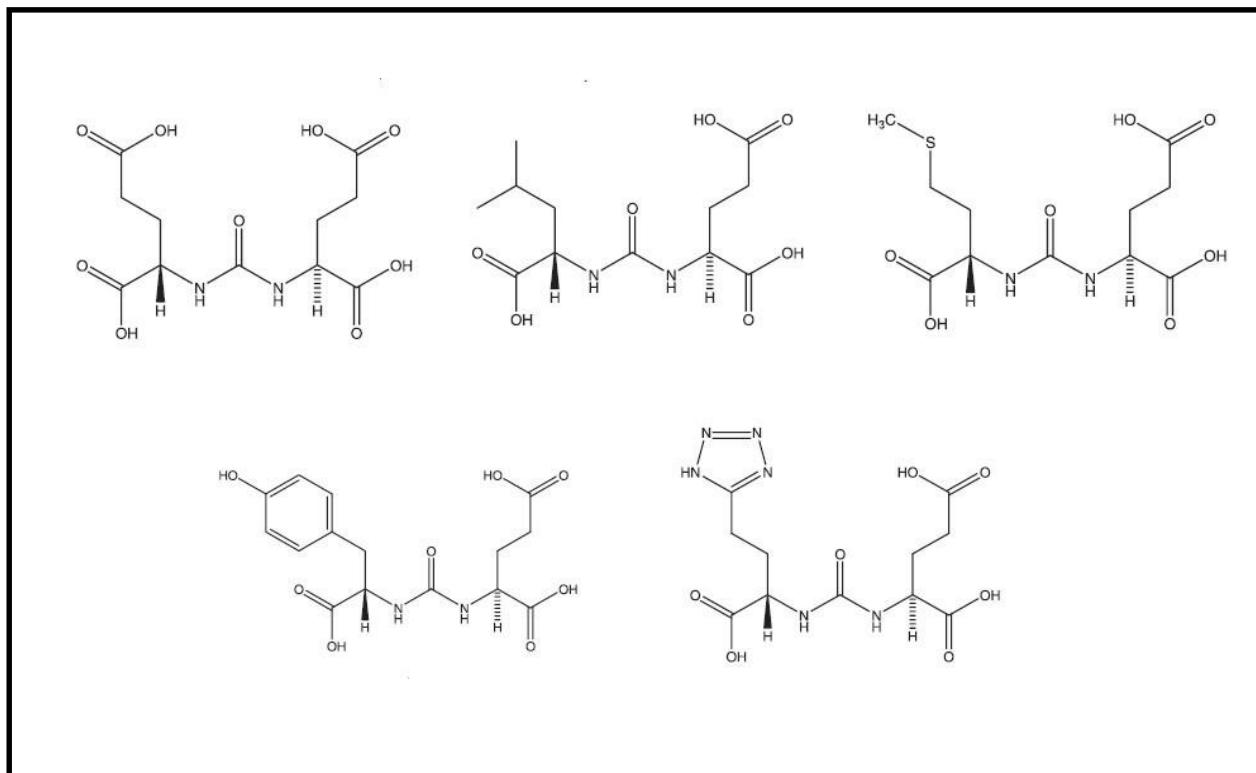
estão sendo usados na terapia radionuclídica do câncer de próstata. Um modelo amplamente utilizado, desenvolvido por Pomper e col<sup>84</sup> foi desenvolvido baseado no grupo farmacofórico – Glutamato-Ureia-X (figura 4) concluindo que a presença do aminoácido lisina no grupo farmacofórico era responsável por aumentar a afinidade pelo sítio de ligação. A presença de três grupos ácidos carboxílicos, dois fornecidos pelo glutamato e um pela lisina, também foram essenciais para melhorar a interação da base dos inibidores de PSMA com o sítio ligante S1<sup>42</sup>.

A partir dessa estrutura básica, diversos derivados foram derivados foram produzidos com a introdução de diferentes agentes quelantes e espaçadores (figura 5)<sup>84</sup>.

**Figura 4 - Grupo farmacofórico Glutamato-Ureia-Lisina<sup>79</sup>**



**Figura 5 - Estrutura molecular de inibidores de PSMA baseados em ureia. O terminal de carboxilato livre é mantido intacto (lado direito) e as modificações estruturais são introduzidas na outra extremidade (lado esquerdo), substituindo o ácido aspártico por outros aminoácidos<sup>84</sup>**



Para a interação com o receptor é relevante o grupamento espaçador, que atua como uma ponte entre o grupo farmacofórico e o quelante.

As alterações no espaçador refletem na farmacocinética e farmacodinâmica dos inibidores de PSMA. As cargas negativas existentes no espaçador promovem uma redução na retenção do inibidor de PSMA em regiões não alvo <sup>88</sup>.

Os quelantes são responsáveis por carregar o radioisótopo até a célula cancerígena, e possuem papel importante na estrutura da molécula e na forma como o inibidor de PSMA se comportará no organismo <sup>89</sup>.

Dada a complexidade do desenvolvimento de moléculas que se ligam especificamente em um alvo selecionado, faz-se necessário selecionar um alvo específico e ao mesmo tempo com expressão elevada em células tumorais, sendo assim a molécula deve ser obtida a partir de uma rota sintética simples e barata, e quando possível com poucos processos de purificação <sup>65</sup>.

Dois estratégias diferentes foram adotadas para o desenvolvimento de moléculas PSMA-específicas, sendo que a primeira estratégia utiliza a estrutura molecular do PSMA para direcionar anticorpos monoclonais, enquanto a segunda estratégia aproveita a atividade enzimática do PSMA para direcionar inibidores enzimáticos<sup>51</sup>.

As duas estratégias de acordo com a literatura obtiveram sucesso no desenvolvimento de novas moléculas PSMA-específicas para diagnóstico e terapia do câncer de próstata. Porém, a primeira abordagem está ficando meio de lado, pois a segunda estratégia que utiliza moléculas pequenas radiomarcadas visando a atividade enzimática do PSMA em evidência<sup>52</sup>.

O primeiro anticorpo monoclonal desenvolvido anti-PSMA, foi o 7E11 chamado de Capromab que se liga à porção intracelular ou epítipo citoplasmático do PSMA tem aplicação clínica do 7E11 aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) como ferramenta de diagnóstico do câncer de próstata, sendo o 7E11 registrado com o nome comercial Prostascint <sup>53</sup>.

O Prostascint é conjugado com o agente quelante ácido dietileno triamino pentacético (DTPA) que é radiomarcado com <sup>111</sup>In para aquisição de imagens em tomografia por emissão de fóton único (SPECT) de pacientes portadores do câncer de próstata<sup>53</sup>.

O Prostascint demonstrou ser útil para identificação de outros tipos de câncer, como carcinoma renal e linfoma não-Hodgkin e em condições não cancerígenas, como a neurofibromatose<sup>54</sup>.

Porém, há relatos na literatura algumas desvantagens da aplicação clínica do Prostascint. Os anticorpos monoclonais são macromoléculas com um peso molecular de cerca de 150 kDa, portanto,

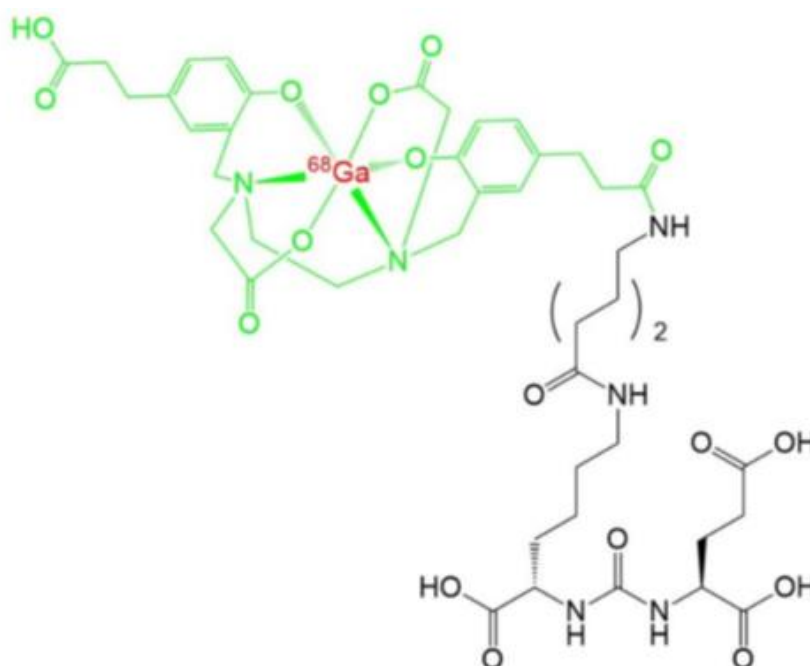
requerem um tempo considerável para se acumular na massa tumoral. Outro fator apresentado foi o custo do radiofármaco, considerado alto devido ao procedimento de conjugação e produção de Índio-111 e os pacientes também necessitam de duas visitas ao hospital, a primeira para a administração do radiofármaco e a segunda para obtenção da imagem<sup>55</sup>.

O Proscint, contribuiu para a medicina nuclear após a aprovação da FDA em 1996, e está diminuindo porque liga-se à região citoplasmática intracelular do PSMA, resultando na incapacidade de diferenciar as células cancerosas mortas e vivas e anticorpos em geral tem dificuldade em penetrar na microvascularização do tumor ou sofrem degradação rapidamente através de proteólise<sup>58</sup>. Por isso, tem havido mais interesse pelo desenvolvimento de anticorpos monoclonais que se ligam à região extracelular do PSMA e inibidores da atividade enzimática do PSMA<sup>9, 56</sup>.

#### **3.2.4.1. <sup>68</sup>Ga-PSMA-11**

Pesquisadores relataram em 2012, a eficiência de ligação do PSMA-11 (figura 6) em células LNCaP, em estudo de competição com o 2-PMPA (2-(fosfonometil -ácido pentanodióico). O trabalho comprovou *in vivo*, em camundongos com tumor de próstata, uma alta captação do PSMA-11 radiomarcado com gálio-68 ( $7,7 \pm 1,45$  % após 1 hora da administração). Destacou-se também uma elevada excreção renal, com aproximadamente 137% da Atividade Injetada por grama (%AI/g) após 1 hora, demonstrando uma taxa de internalização de aproximadamente 10% em células LNCaP<sup>74</sup>.

**Figura 6 - Estrutura química de  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11<sup>108</sup>**



Pesquisa realizada em 2017, comparou a eficiência na detecção de lesões metastáticas de câncer de próstata do PSMA-11 marcado com gálio-68 com a Colina- $^{11}\text{C}$  em 123 pacientes. O  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11 se mostrou superior na detecção de lesões ósseas e metástases linfonodais, e apresentou uma taxa de detecção de ao menos uma lesão metastática superior a Colina- $^{11}\text{C}$  quando o PSA esteve abaixo de 1 ng/mL em pacientes que previamente tiveram a sua próstata removida <sup>75</sup>.

A análise dos resultados de estudo realizado em 2017, em 1007 pacientes sob terapia de privação androgênica, submetidos a PET com  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11, entre 2014 e 2017 revelou uma relação positiva entre o aumento sérico do PSA e a detecção de lesões e concluiu que a velocidade de elevação do PSA sérico não teve relação com a escala de Gleason<sup>6</sup>.

Em 2018 no Uruguai um estudo evidenciou a relação tumor/background do  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11 ( $110,3 \pm 107,8$ ) foi superior à da Colina- $^{11}\text{C}$  ( $27,5 \pm 17,1$ ). Este inibidor de PSMA também se mostrou capaz de detectar mais lesões metastáticas<sup>76</sup>.

O  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11 tem um enorme potencial em muitos cenários clínicos de diagnóstico e terapia do câncer de próstata, e diretrizes clínicas elaboradas por grupos de especialistas no assunto foram produzidas e publicadas em revistas científicas. Isso é ainda mais enfatizado por várias diretrizes clínicas publicadas no Journal of Nuclear Medicine ou no European Journal of Nuclear

Medicine and Molecular Imaging e é indicado para o diagnóstico inicial e estadiamento de pacientes com câncer de próstata com suspeita de metástases<sup>108</sup>.

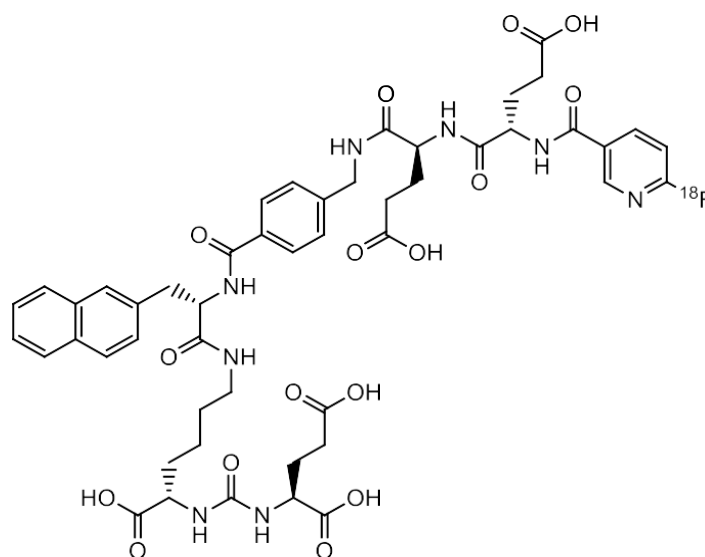
O <sup>68</sup>Ga-PSMA-11 tem sido bastante empregado em estudos clínicos, como marcador de imagem do câncer de próstata metastático, particularmente como par teranóstico de derivados de PSMA radiomarcados com radionuclídeos para terapia, como lutécio-177 e actínio-225<sup>108</sup>.

### 3.2.4.2. <sup>18</sup>F-PSMA-1007

O <sup>18</sup>F-PSMA-1007 (figura 7) é considerado como a segunda geração dos traçadores marcados com flúor-18, após a introdução do DCFPyL e do DCFBC. A motivação pela busca de peptídeos radiomarcados com flúor-18 se dá por dois motivos: os geradores de gálio-68 tem uma disponibilidade limitada, o que restringe a produção de radiofármacos marcados com este radioisótopo e o crescimento dos centros de PET (unidades de medicina nuclear com um ciclotron dedicado)<sup>77</sup>.

Ensaio com este peptídeo demonstraram uma taxa de aproximadamente 67% de internalização, em camundongos *Nude* com câncer de próstata desenvolvido a partir de células LNCaP. O <sup>18</sup>F-PSMA-1007 evidenciou uma captação persistente no tumor ( $8,04 \pm 2,39$  %), após uma hora da administração, mesmo com bloqueio do PSMA ( $4,26 \pm 2,06$  %)<sup>77</sup>.

**Figura 7 - Estrutura química do traçador PET <sup>18</sup>F-PSMA-1007** <sup>109</sup>



Pesquisas realizadas compararam a eficiência na detecção de lesões metastáticas do <sup>68</sup>Ga-

PSMA-11 e do  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 em 16 pacientes prostatectomizados. Foi evidenciado que não houve superioridade na detecção de lesões de médio e alto risco. Sendo assim o  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 demonstrou ser mais eficiente na detecção de lesões benignas, em função do flúor-18 possuir um pósitron de menor energia do que o gálio-68, fator que melhora a resolução espacial do radiotraçador<sup>110</sup>

Foi realizado um estudo para avaliar a eficácia diagnóstica de parâmetros relevantes do  $^{18}\text{F}$ -antígeno de membrana específico da próstata (PSMA)-1007 PET na predição do grau patológico do câncer de próstata primário. Pois o comportamento biológico do câncer de próstata varia muito entre diferentes graus de malignidade. O câncer de próstata de alto grau é mais propenso à recorrência e à metástase à distância<sup>111</sup>.

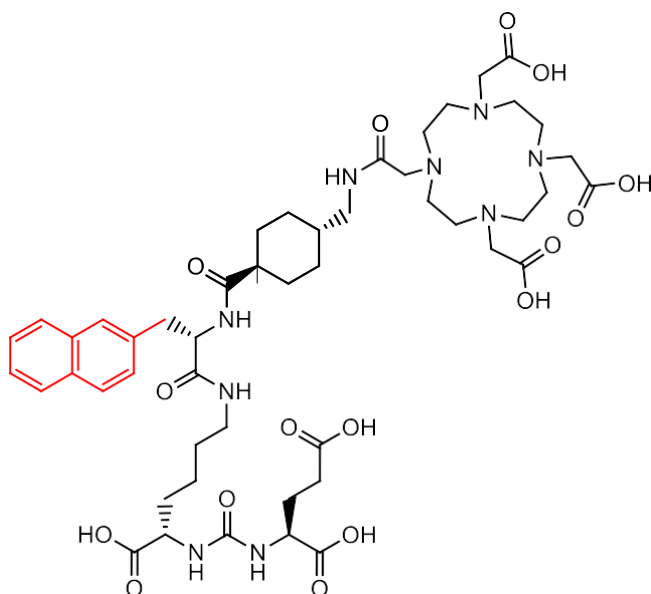
#### 3.2.4.3. PSMA-617

O PSMA-617, assim como outros inibidores de PSMA, possui o grupo Glu-Ureia-Lis, responsável pela ligação no sítio S1 (figura 8)<sup>42</sup>. O grupo  $\beta$ -naftil (identificado em vermelho na figura 8) que aumenta a interação hidrofóbica neste mesmo sítio, melhorando a interação do espaçador com a estrutura do PSMA de membrana<sup>79</sup>.

Ensaio pré-clínico com o  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 em camundongos com tumor de próstata em 2015, verificou captação de aproximadamente 10% no tumor, e também elevada captação renal de  $137,2 \pm 77,8\%$  AI/g<sup>80</sup>. Ainda em 2015 foi publicado um *artigo* no qual foi apresentada a redução do câncer em um paciente em virtude do tratamento com o  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 (sob uso compassivo), com regressão do PSA de 38,0 ng/mL para 4,6 ng/mL após dois ciclos<sup>81</sup>.

O PSMA-617 radiomarcado com lutécio-177 apresentou os efeitos adversos divulgados em 2015 no estudo realizado com 10 pacientes que apresentaram poucos efeitos colaterais. Sendo que somente um paciente relatou sentir os lábios secos, redução do paladar e xerostomia<sup>82</sup>.

**Figura 8 - Estrutura química do PSMA-617<sup>82</sup>**



Em 2017 foi realizado estudo de fase I com o  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 com escalonamento de dose deste radiofármaco em pacientes com câncer de próstata multimetastático resistente a castração<sup>9</sup>. O estudo do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 demonstrou a eficácia do tratamento em pacientes com câncer de próstata multimetastático resistentes a privação androgênica. Na Alemanha, 52 pacientes prostatectomizados foram tratados (uso passivo) com protocolo de 3 a 6 ciclos. Com este grupo 71% dos pacientes apresentaram redução de PSA sérico com prolongamento da sobrevida em até 60 semanas<sup>9</sup>.

O  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 teve disponibilidade e direitos comerciais de aquisição, pela empresa ABX (Advanced Biochemical Compounds) e estudos clínicos de terapia em vários lugares no mundo<sup>83</sup>.

A aprovação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 pelos órgãos regulamentares se deu através do estudo clínico VISION, um ensaio randomizado de fase 3, que comparou o uso  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 mais o padrão de tratamento (SoC) versus o padrão de tratamento sozinho em pacientes com mCRPC, estabelecendo sua segurança e eficácia. Os dados clínicos do estudo VISION servirão para comparação com o  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T com a finalidade de estabelecer uma equivalência entre os dois radiofármacos<sup>113</sup>.

A Novartis conduziu dois estudos clínicos com o  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 entre 2017 e 2021 que levantaram dados de eficácia e segurança para o registo do produto que recebeu o nome de Pluvicto. O Pluvicto® (vipivotida tetraxetana ( $^{177}\text{Lu}$ )) ou  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617, foi o primeiro medicamento para terapia radionuclídica a base de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA aprovada para o tratamento do câncer de próstata

metastático resistente a castração (mCRPC). Fabricado pela farmacêutica Novartis, a qual possui a patente do peptídeo PSMA-617, o Pluvicto® aprovado pela FDA (Food And Drug Administration) em março de 2022, e em dezembro do mesmo ano, pela União Europeia (UE)<sup>113</sup>.

No Brasil o <sup>177</sup>Lu-PSMA-617 ou Pluvicto® (vipivotida tetraxetana (<sup>177</sup>Lu) ) obteve aprovação da Anvisa sob o nº 25351.636049/2022-60 12/2023 por meio da Resolução-RE nº 4.884, de 21 de dezembro de 2023 para o tratamento do câncer de próstata metastático resistente a castração (mCRPC) registro nº 56994502000130 concedido a fabricante NOVARTIS BIOCIÊNCIAS S.A representando uma possibilidade de melhorar a qualidade de vida e a sobrevivência dos pacientes com câncer de próstata, além de prolongar o tempo de progressão da doença<sup>114</sup>.

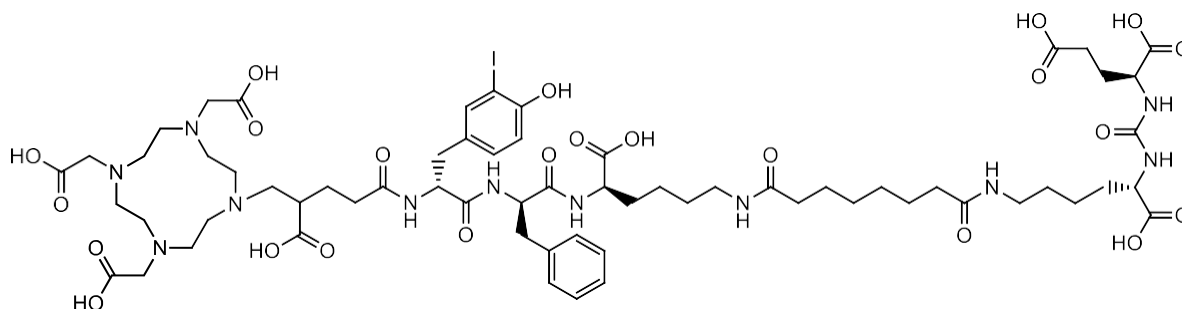
As aprovações anteriormente referidas de medicamentos para o câncer de próstata trouxeram benefícios clínicos para pacientes com base em terapias com radioligantes, como <sup>177</sup>Lu-PSMA-617, que podem atingir células de câncer de próstata, poupando a maioria dos tecidos normais<sup>113</sup>.

#### 3.2.4.4. <sup>177</sup>Lu-PSMA-I&T

Considerando o significativo alto grau de ligação do PSMA-11 com o PSMA de membrana, um grupo de pesquisadores desenvolveu alguns radiotraçadores com objetivo de obter um inibidor com alta afinidade voltado para terapia, destes compostos sintetizados o melhor resultado foi obtido com o DOTAGA-ffk(SubKuE). Diferentemente do quelante HBED-cc (presente no PSMA-11), o DOTAGA permite a quelação com radiometais voltados para o tratamento, como o lutécio-177. No entanto, este novo inibidor de PSMA não demonstrou a mesma afinidade de ligação observada com o PSMA-11<sup>71</sup>.

Um ano mais tarde, em 2015, o mesmo grupo de pesquisadores realizou pequenas modificações na molécula, com as quais obteve-se uma melhora na capacidade de ligação ao PSMA, assim como na relação tumor/background e esta molécula foi batizada de PSMA-I&T [DOTAGA-(I-y)-fk(Sub-KuE)] (figura 9). Este composto foi marcado com o lutécio-177 e administrado (uso passivo) em dois pacientes. Foi observada uma farmacocinética rápida e sem apresentar problemas nas glândulas salivares ou nos rins<sup>7</sup>.

**Figura 9 - Estrutura química do PSMA-I&T** <sup>72</sup>



Em um estudo realizado em 2016, foi identificado uma alta captação do <sup>111</sup>In-PSMA-I&T em tumores de próstata presentes em camundongos *Nude* e elevada captação renal<sup>72</sup>.

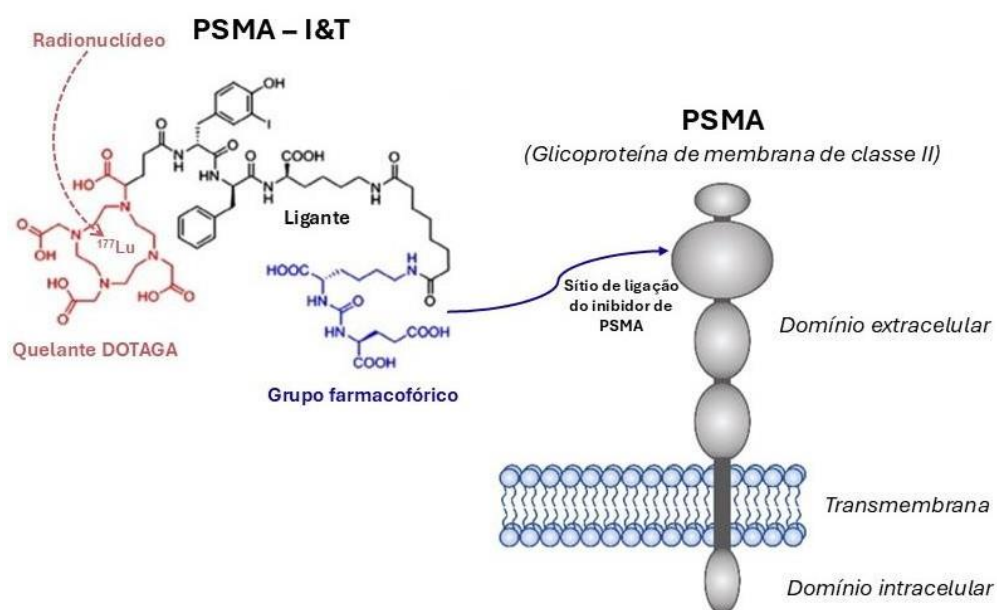
Foi publicado um estudo em 2017 que registou uma mesma taxa de identificação de lesões metastáticas do câncer de próstata entre o <sup>68</sup>Ga-PSMA-11 e o <sup>68</sup>Ga-PSMA-I&T. Nesse estudo o PSMA-11 apresentou valor de SUV superior (*Standardized Uptake Value*) no tumor e menor em tecidos não alvo do que o PSMA-I&T, sendo considerado mais sensível<sup>73</sup>.

Um estudo clínico de uso compassivo do <sup>177</sup>Lu-PSMA-I&T com 100 pacientes reportou que a sobrevida global foi mais elevada nos casos em que não havia metástases viscerais, entretanto, a porcentagem de pacientes vivos após 14 meses de estudo foi a mesma entre os grupos, não havendo efeito colateral grave em nenhum paciente<sup>115</sup>.

O PSMA-I&T tem características que facilitam a radiomarcção, sua preparação é mais simples e uma farmacocinética mais favorável, penetrando nos tumores sólidos com mais facilidade, propiciando a aquisição de imagens em poucas horas após a administração do radiofármaco, o caracterizando como um agente teranóstico<sup>117, 118</sup>.

O PSMA-I&T possui em sua estrutura três componentes principais: um grupo farmacofórico (K-ureia-Glu ou KuE), um ligante e um quelante (DOTAGA-FFK (SubKuE)) para ligar o radionuclídeo<sup>71, 7, 90</sup>.

**Figura 10 - Imagem Adaptada da estrutura molecular do PSMA-I&T radiomarcado com  $^{177}\text{Lu}$  e o sítio de ligação do antígeno de membrana específico da próstata (PSMA)<sup>119</sup>**



A relação entre a captação tumoral e a captação benigna do tecido é uma informação que pode ser avaliada e usada para prever a eficácia antitumoral do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T e para o planejamento do tratamento<sup>112, 120</sup>.

Devido a porção do peptídeo do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, o radiofármaco é direcionado diretamente ao tecido que expressa PSMA, onde se liga ao PSMA da célula, de modo que o radioisótopo é concentrado no tecido da próstata e metástases, poupando a maioria dos tecidos saudáveis. O conjugado de radioisótopo então é internalizado na célula através de endossomos, onde o radioisótopo  $^{177}\text{Lu}$  libera partículas  $\beta^-$  e  $\gamma$ , causando danos ao DNA, levando à morte celular<sup>121</sup>.

O tratamento com  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA é uma forma de radioterapia interna e ao contrário da radioterapia por feixe externo, não existe uma dose planejada para uma área específica, na terapia com radionuclídeos, a dose vai depender da atividade administrada e do comportamento farmacocinético do traçador e no caso da terapia com  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, a dose administrada pode variar conforme o protocolo utilizado e particularidades do paciente, sendo analisado e definido pelo médico radioncologista<sup>122</sup>.

O  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T produzido no IPEN mostrou um padrão típico de biodistribuição de ligantes direcionados ao PSMA, com depuração sanguínea rápida, baixa captação nos vários

órgãos do corpo, com exceção pelos rins, apesar das diferenças nas atividades específicas dos radiofármacos empregados. O estudo de competição *in vivo* do IPEN demonstrou a especificidade da ligação do radiofármaco  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T ao receptor PSMA, deslocado com excesso do competidor<sup>123</sup>.

O  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, apresentou uma cinética de depuração favorável em tecidos saudáveis, demonstrado por valores mais elevados em órgãos e pela baixa concentração sanguínea nas primeiras horas e um declínio subsequente nos órgãos<sup>92</sup>.

### 3.2.5. Seleção do radioisótopo

Vários fatores influenciam na escolha do radioisótopo para aplicação terapêutica, como por exemplo no caso do tratamento de neoplasias, o primeiro fator a ser considerado é se a forma de decaimento e a energia da partícula emitida condizem com a localização e tamanho do tumor. Um radioisótopo ideal para tratar tumores sólidos de grandes dimensões será diferente daquele aplicado para eliminar pequenos sítios metastáticos, compostos apenas de algumas centenas de células. Outro fator importante é a meia-vida física, o método de produção, a química e o comportamento biológico do radioisótopo também devem ser considerados<sup>30</sup>.

Diversos radiometais podem ser empregados na medicina nuclear e a escolha destes baseia-se em função da aplicação e da necessidade.

Dentre os principais isótopos utilizados hoje na clínica para terapia radioisotópica são emissores de partículas  $\alpha$ , como o actínio-225 ( $^{225}\text{Ac}$ ) e de partícula  $\beta^-$ , como por exemplo o ítrio-90 ( $^{90}\text{Y}$ ) e lutécio-177 ( $^{177}\text{Lu}$ ), pois possuem radiação com alta transferência linear de energia e promovem uma alta ionização em curto espaço percorrido<sup>38</sup>. Os elétrons emitidos de um núcleo em decaimento  $\beta^-$  apresentam espectro de energia e alcance variados<sup>65</sup>.

Ao interagir com a matéria, as partículas  $\beta^-$  podem sofrer alteração de rota, e podem ter redução da energia cinética, que pode chegar a zero. A transferência linear de energia (LET) nessa interação é relativamente baixa (0,2 keV/ $\mu\text{m}$ ), as partículas são pouco eficientes em lesar o DNA das células-alvo. Assim, para serem utilizados como agentes terapêuticos, os emissores  $\beta^-$  devem estar presentes em altas concentrações no tecido tumoral, garantindo a transferência de milhares de elétrons a cada célula neoplásica<sup>36</sup>. Nesse sentido verifica-se que o radioisótopo em si, na maioria das vezes, não atinge o tecido alvo sem a utilização de uma molécula carregadora com alta afinidade pelo sítio de ligação.<sup>64</sup>

### 3.2.6. Lutécio 177 ( $^{177}\text{Lu}$ )

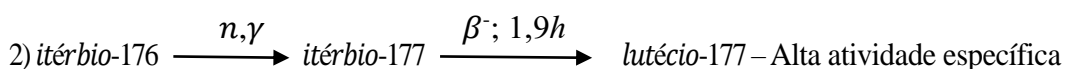
O lutécio 177 ( $^{177}\text{Lu}$ ) é produzido por reator nuclear, emissor de raios gama de energias 113 - 208 keV, decaimento beta de energia média 490 keV e energia máxima de 0,5 MeV, poder de penetração máxima inferior a dois milímetros. A emissão gama de 113 – 208 keV de  $^{177}\text{Lu}$  possibilita a aquisição de imagens para informações referentes à localização, biocinética e retenção do material para dosimetria e planejamento terapêutico. O lutécio-177 tem emissão de radiação  $\beta^-$  de 497 keV de energia máxima, com alcance médio de 230  $\mu\text{m}$ , sendo ideal para o tratamento de micrometástases, como as geradas pelos tumores de próstata hormônio-refratários. A meia-vida física é de 6,73 dias, viabiliza a distribuição para locais distantes do local de produção do radiofármaco<sup>21</sup>.

O lutécio é encontrado na natureza como uma mistura isotópica de 97,41% para o  $^{175}\text{Lu}$  e 2,59% para o isótopo  $^{176}\text{Lu}$ , este segundo é radioativo com  $3,78 \times 10^{10}$  anos de meia-vida.

A produção do lutécio-177 ( $^{177}\text{Lu}$ ), se dá em reatores nucleares de alto fluxo por meio do bombardeamento de um alvo enriquecido em óxido de lutécio-176 (71 %) disponível comercialmente. Entretanto, esta rota de produção não resulta em 100% de Lutécio-177, restando átomos de lutécio-176, sendo denominado de lutécio-177 “carrier added” (c.a.)<sup>30</sup>.



Neste contexto, este radioisótopo pode ser obtido indiretamente, irradiando óxido de itérbio-176 ( $\text{Yb}_2\text{O}_3$ ) obtendo  $^{177}\text{Yb}$  que por decaimento  $\beta^-$  produz  $^{177}\text{Lu}$  livre de carregador, nesta rota 100% do radioisótopo final recolhido é lutécio-177, sendo denominado “non carrier added” (n.c.a.)<sup>65</sup>.



Entre as duas rotas de produção destaca-se como a principal característica a presença de carregador (lutécio-176) no produto final, sendo necessário, em alguns casos, considerar a razão molar da radiomarcagem. Outra diferença que se destaca entre as duas rotas é que a produção pela via indireta geralmente resulta em um lutécio-177 com atividade específica 30% superior.<sup>66</sup>

O lutécio, assim como o ítrio possui a sua camada  $4f$  interiorizada e “protegida” pelas camadas  $5s^2$ ,  $5p^6$  e  $6s^2$  e não está envolvida em ligações, a interação entre o átomo doador de elétrons e o metal é predominantemente iônica<sup>67</sup>.

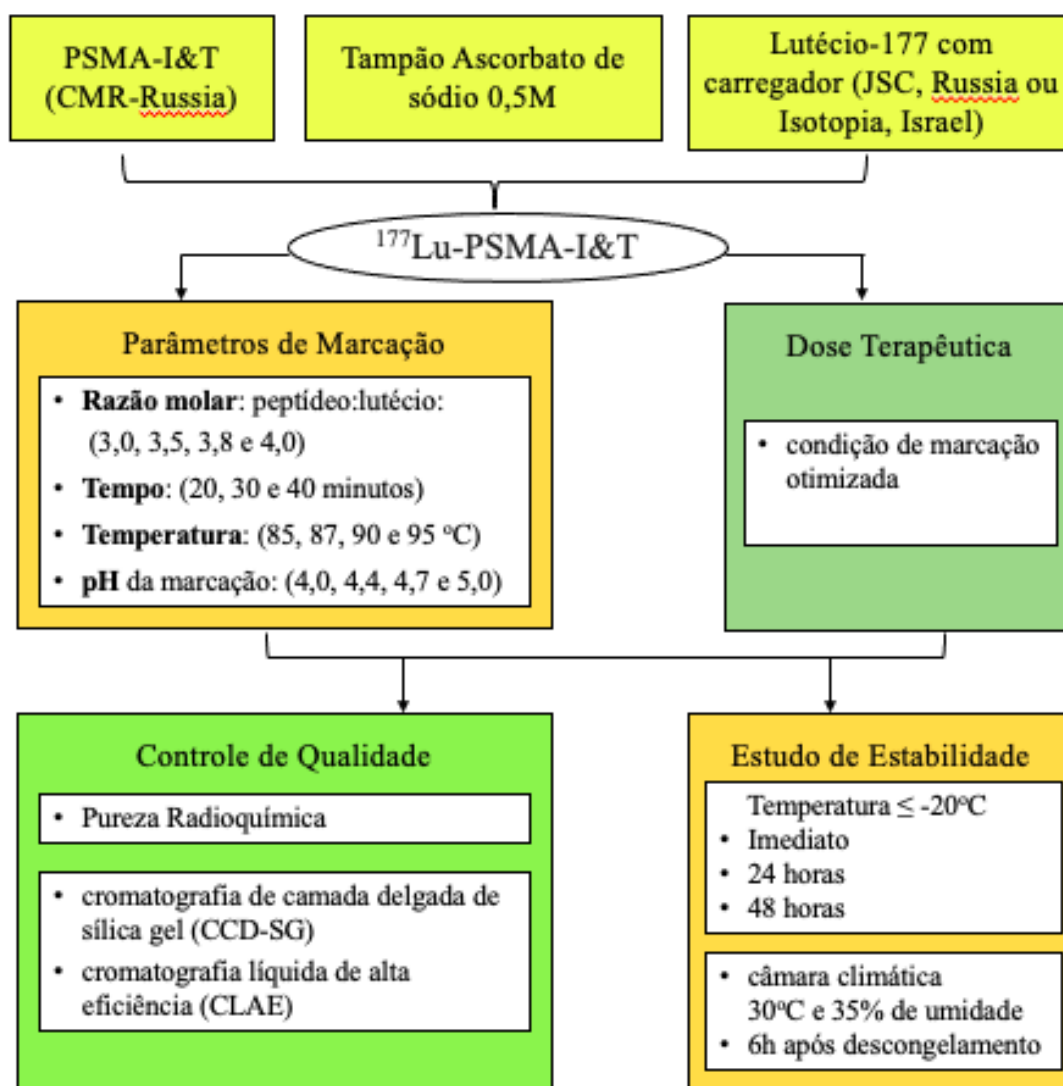
O lutécio-177 apresenta características químicas similares a de outros lantanídeos. Os quelantes multidentados, aniônicos e macrocíclicos, são necessários para garantir a estabilidade do complexo molécula carreadora-radiolantanídeo. Na ausência de ligantes que satisfaçam seu número de coordenação, ocorre a formação de um radiocolóide [ $^{177}\text{Lu}(\text{OH})_3$ ] em pH neutro ou alcalino e se acumula no fígado. Para evitar a formação de hidróxidos insolúveis, utiliza-se no procedimento de marcação tampão citrato ou acetato, com faixas de pH que variam entre 4,5 e 6,5<sup>66</sup>.

A partir do quelante utilizado, pode ser necessário aquecimento para a reação de complexação<sup>69</sup>. Em função do  $^{177}\text{Lu}$  mimetizar o cálcio *in vivo* e apresentar alta afinidade pelo tecido ósseo, é necessário garantir o máximo de pureza radioquímica do radiofármaco a ser empregado na terapia.

A marcação de peptídeos, proteínas, anticorpos e substratos não proteicos em geral, necessitam de agentes quelantes que tornam possível o transporte de radiometais até o alvo desejado. O PSMA-I&T possui o quelante integrado à sua estrutura, separado do grupo farmacofórico por meio de um espaçador. O quelante do PSMA-I&T é adequado para a radiomarcção com o lutécio-177, um radioisótopo metálico da família dos lantanídeos e utilizado para fins de tratamento<sup>87</sup>.

#### 4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Neste tópico apresenta-se a experiência empregada para analisar alguns parâmetros estabelecidos de marcação do peptídeo PSMA-I&T com o radioisótopo lutécio-177 c.a., e avaliar o impacto da variação dos parâmetros na eficiência e estabilidade das marcações. Os parâmetros de marcação são: temperatura, pH, tempo e razão molar peptídeo-lutécio. Serão definidos os métodos de controle de qualidade (CQ) da pureza radioquímica das marcações e os métodos cromatográficos a serem empregados. O delineamento experimental encontra-se resumido no diagrama a seguir:



Fonte: Autor da dissertação

O peptídeo PSMA-I&T, foi adquirido pronto para marcação com  $^{177}\text{Lu}$ . Os parâmetros que podem interferir na marcação do produto com  $^{177}\text{Lu}$  foram estudados de modo a obter uma alta

porcentagem de pureza radioquímica (%PR) do marcador molecular, idealmente  $\geq 95\%$ .

A partir do estudo foram determinados os procedimentos de marcação, variando-se os parâmetros e acompanhando os resultados de porcentagens de pureza radioquímica, para estabelecer as condições mais favoráveis para a marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T. Cada parâmetro foi avaliado de forma única, ou seja, mantendo-se os demais parâmetros de marcação fixos, e em intervalos, para estabelecimento de faixas de trabalho. A condição inicial de radiomarkação empregada foi baseada em procedimento prévio, empregado nos estudos de marcação do peptídeo PSMA-617 com lutécio-177, considerada como condição padrão de marcação. A partir do estudo das condições de marcação, avaliou-se o efeito da atividade crescente de  $^{177}\text{LuCl}_3$  sobre a pureza radioquímica.<sup>97</sup>

A pureza radioquímica foi analisada por cromatografia em camada delgada de sílica gel (CCD-SG) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para avaliar a influência do parâmetro estudado na %PR logo após a marcação, mas também seu impacto na estabilidade do produto radiomarcado, as marcações foram avaliadas imedito e após 24, 48 horas para todos os parâmetros estudados. As amostras foram mantidas em temperatura  $\leq -20\text{ }^\circ\text{C}$  para os estudos de estabilidade.

## 5. MATERIAIS

### 5.1. Infraestrutura

O trabalho foi realizado nos laboratórios de Controle de Qualidade e Pesquisa e Desenvolvimento do Centro de Radiofarmácia (CECRF) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN - CNEN/SP). O laboratório possui toda a infraestrutura necessária para a manipulação de materiais radioativos.

Principais equipamentos e materiais utilizados na realização deste trabalho:

- ✓ Agitador/aquecedor Thermomixer Comfort 1,5 mL (Eppendorf, EUA);
- ✓ Balança analítica (Mettler Toledo, EUA);
- ✓ Calibrador de atividade CR-35R (Capintec, EUA);
- ✓ Coluna de fase reversa C18 para cromatografia líquida de alta eficiência (Waters, 150 mm x 4,6 mm, 5 $\mu$ m);
- ✓ Contador automático tipo poço com cristal NaI (TI) - D5002 cobra II (Packard, EUA);
- ✓ Cromatógrafo líquido de alta eficiência, modelo 1260 Infinity, composto por sistema modulado constituído por bomba G1311B (1260 QuantPump), injetor automático de amostras G1329B (1260 ALS), detector UV G4212B (1260 DAD) e forno G1316A (1260 TCC) (Shimadzu, USA);
- ✓ Detector radioativo (câmara de cintilação — NaI) do sistema CLAE (Shimadzu, USA), modelo 2x2" Pinhole, acoplado à interface de processamento (Lablogic);
- ✓ GraphPad Prism 5.00® (GraphPad Software, Inc., USA);
- ✓ Material plástico descartável em geral, tais como ponteiras, seringas, tubos cônicos com tampa para reação tipo eppendorf, tubos capilares, tubos cônicos tipo Falcon, criotubos, espátula para remoção de células;
- ✓ Medidor de pH (Tecnopon, Brasil);
- ✓ Pipetas automáticas (Brand, Alemanha; Socorex, Suíça e Eppendorf, EUA);
- ✓ Seringa de insulina com agulha de 12,7 x 0,33 mm (BD, EUA);
- ✓ Suporte cromatográfico de sílica gel 60 em placa de alumina (TLC-SG)(Merck, Alemanha);
- ✓ Tiras indicadoras de pH (Merck, Alemanha);

- ✓ Vidraria em geral, tais como béqueres, erlemeyers, balões volumétricos e provetas.

## 5.2. Reagentes e soluções utilizados

Principais reagentes e soluções utilizados na realização deste trabalho:

- ✓ Ácido ascórbico (Merck, Alemanha)
- ✓ Ascorbato de sódio (Sigma Aldrich, EUA)
- ✓ Citrato de sódio (Sigma Aldrich, EUA)
- ✓ Água purificada - Purificador Gehaka
- ✓ Álcool etílico (Merck, Alemanha)
- ✓ Tricloreto de lutécio-177 ( $^{177}\text{LuCl}_3$ ) (JSC, Rússia ou Isotopia, Israel)
- ✓ Peptídeo PSMA-I&T (CMR Rússia)

## 6. MÉTODOS

### 6.1 Condição padrão de marcação do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T

As marcações de PSMA-I&T (CMR, Rússia) foram realizadas com tricloreto de lutécio ( $^{177}\text{LuCl}_3$ ) (JSC, Rússia ou Isotopia, Israel), obtido a partir da irradiação de  $^{176}\text{Lu}$ , ou seja, com carregador, sendo a especificação para a atividade específica  $> 740 \text{ GBq/mg}$  ( $> 20 \text{ Ci/mg}$ ) na data de calibração. A marcação adaptada da metodologia descrita por Boas<sup>97</sup> incluiu o controle da temperatura de reação, sendo necessário aquecimento, controle do tempo de reação e do pH, empregando-se tampão ascorbato de sódio.

O procedimento de radiomarcção inicial do peptídeo PSMA-I&T (CMR, Rússia), consistiu em adicionar a um frasco com fundo cônico de 1,5 mL, 20  $\mu\text{L}$  da solução do peptídeo (1 mg/mL de água para injetável - API), 200  $\mu\text{L}$  de tampão ascorbato de sódio 0,5 M, pH 4,7 seguido da solução de cloreto de lutécio-177, com atividade de marcação variando de 370 a 740 MBq (10 a 20 mCi), de maneira a obter a razão molar do peptídeo:lutécio pretendida, considerando a atividade específica do lutécio-177 na data da marcação, que variou de 321,53 a 1184 GBq/mg (8,69 a 32 Ci/mg). A mistura de reação foi aquecida a 90 °C em aquecedor termomixer (Eppendorf) por 30 minutos e agitação de 450 rpm<sup>97</sup>.

Após término do aquecimento, a solução foi resfriada em bancada, retirada uma alíquota da amostra marcada (produto), diluída com solução de NaCl 0,9%, obtendo-se uma concentração radioativa de 1mCi/mL, para determinação da porcentagem de pureza radioquímica (%PR) por Cromatografia em Camada Delgada de Sílica Gel (CCD-SG) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), imediatamente e 24 e 48 horas após a marcação, sendo a mistura de marcação mantida sob congelamento ( $\leq -20 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Este procedimento foi repetido para a determinação da pureza radioquímica para todas as marcações realizadas no estudo dos parâmetros de marcação, descritos a seguir:

- Razão molar: peptídeo:lutécio: (3,0, 3,5, 3,8 e 4,0)
- Tempo: (20, 30 e 40 minutos)
- Temperatura: (85, 87, 90 e 95 °C)
- pH da marcação: (4,0, 4,4, 4,7 e 5,0)

## 6.2 Estudo dos parâmetros de marcação do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T

### 6.2.1 Variação de razão molar de marcação do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T

A razão molar foi o primeiro parâmetro a ser estudado na marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, uma vez que se utilizou o radioisótopo obtido pela via direta, ou seja, com a presença de carregador. A avaliação do parâmetro razão molar peptídeo:lutécio foi importante para garantir que o radiofármaco fosse obtido com a maior atividade específica possível (atividade de lutécio/massa ou moles do peptídeo), ou seja, com o menor excesso possível do peptídeo, sendo esta uma característica desejável para um radiofármaco receptor-específico, uma vez que nem todas as moléculas do peptídeo serão radiomarcadas, e todas estarão disponíveis para ligarem-se aos receptores. Sendo assim, o estudo do parâmetro razão molar peptídeo:lutécio tornou-se importante para determinar a relação que promoveu alto rendimento de marcação, %PR elevada, atendendo ao critério previamente estabelecido ( $\geq 95\%$  do pico principal em CLAE e  $\leq 3\%$  de  $^{177}\text{Lu}$  livre no CCD-SG), além de estabilidade após marcação, para estabelecer um prazo de validade compatível com o transporte do produto para diferentes regiões do país. Neste sentido, valeu-se da experiência prévia do CECRF-IPEN com a produção e comercialização do radiofármaco DOTATATO- $^{177}\text{Lu}$  (DOT-IPEN-177®), cujas doses terapêuticas são produzidas com calibração para 48 horas e validade correspondente.

A razão molar peptídeo:lutécio foi mantida constante em 4,0 para a realização da variação dos demais parâmetros de marcação de PSMA-I&T com  $^{177}\text{Lu}$ . Este procedimento foi repetido para a determinação da pureza radioquímica para todas as marcações realizadas no estudo dos parâmetros de marcação, descritos a seguir:

- Razão molar: peptídeo:lutécio: (3,0, 3,5, 3,8 e 4,0)
- Tempo: (20, 30 e 40 minutos)
- Temperatura: (85, 87, 90 e 95 °C)
- pH da marcação: (4,0, 4,4, 4,7 e 5,0)

### 6.2.2 Variação de temperatura de marcação do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T

Para avaliar a influência da temperatura na marcação do peptídeo  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T foi realizado procedimento de marcação padrão, porém, variando-se a temperatura, em testes de bancada, sendo: 85 °C, 87 °C, 90 °C e 95 °C.

No estudo de variação de temperatura, buscou-se avaliar temperaturas em torno dos 90 °C,

sendo esta temperatura empregada em diversos estudos de marcação com lutécio-177 de peptídeos DOTA-conjugados. O estudo buscou estabelecer uma faixa confiável de trabalho, uma vez que o excesso de aquecimento poderia denaturar o peptídeo e a falta de aquecimento poderia representar uma queda na %PR da radiomarcação<sup>97</sup>.

### 6.2.3 Variação de pH de marcação do <sup>177</sup>Lu-PSMA-I&T

A marcação de peptídeos DOTA-conjugados com lutécio-177 deve ser realizada em meio ácido para preservar o caráter catiônico do lantanídeo (<sup>177</sup>Lu<sup>+3</sup>), uma vez que à medida que o pH se aproxima de 6,0, ocorre formação de espécies oxidadas de lutécio que interferem no rendimento de marcação<sup>97</sup>.

Normalmente, utilizam-se tampão de acetato de sódio, acetato de amônia ou ascorbato de sódio, geralmente acrescidos, antes ou após a marcação, de agentes estabilizantes como o ácido ascórbico e ácido gentísico<sup>97</sup>.

Neste trabalho, optou-se por utilizar o tampão ascorbato de sódio pelo fato de o mesmo já conter ácido ascórbico em sua composição, servindo como agente tamponante e estabilizante na preparação.

Para o estudo da influência do pH na marcação do PSMA-I&T com <sup>177</sup>Lu, o tampão ascorbato de sódio foi preparado na concentração 0,5 M que se mostrou eficaz para tamponar o meio de marcação, mesmo após a adição da solução ácida de cloreto de lutécio-177 (pH 1,0 - 2,0). O tampão ascorbato de sódio 0,5 M foi preparado em pH 4,4; 4,7 e 5,0.

A seguir, apresenta-se o método de preparação do tampão ascorbato de sódio 0,5 M pH 4,7.

- **Preparo da solução tampão Ascorbato 0,5 M pH 4,7:**

O cálculo de concentração do ácido ascórbico para acerto de pH 4,7 na solução é feito conforme descrito a seguir:

Preparo de ácido ascórbico = 0,15 M

Em um béquer pesar 9,9 g de ascorbato de sódio e 2,78 g de ácido ascórbico. Dissolver em 50 mL de água purificada, medir o pH da solução, transferir para um balão volumétrico de 100 mL e homogeneizar a solução.

**Ascorbato de sódio:**

$$MM=198,11\text{g/mol} \quad [ ] 0,5 \text{ M} \quad V= 100\text{mL}$$

$$0,5 = \frac{m}{198,11 \cdot 0,1} \quad \longrightarrow \quad m = 9,9\text{g Ascorbato de sódio}$$

**Ácido Ascórbico:**

$$\text{pH} = 4,7 \quad \text{pKa} = 4,2$$

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{SAL}]}{[\text{H}^+]}$$

$$4,7 - 4,2 = \log \frac{[0,5]}{[\text{H}^+]}$$

$$410^{0,5} = \frac{[0,5]}{[\text{H}^+]} \quad \longrightarrow \quad [\text{H}^+] = \frac{0,5}{10^{0,5}} = \frac{0,5}{3,16} = 0,158\text{M}$$

$$0,158\text{M} = \frac{m}{176,12 \cdot 0,1} \quad \longrightarrow \quad m = 2,78\text{g Ácido Ascórbico}$$

**Valores de Ácido Ascórbico**

pH	Ácido Ascórbico
4,4	2,77g
4,7	2,78g
5,0	4,95g

O pH do tampão ascorbato de sódio foi aferido utilizando dois métodos de medidas sendo eles: o medidor de pH (Tecnopon, Brasil) e a fita indicadora de pH (Merck, Alemanha).

**6.2.4 Variação de tempo de marcação do <sup>177</sup>Lu-PSMA-I&T**

Ao avaliar a influência do tempo nos ensaios de marcação do peptídeo <sup>177</sup>Lu-PSMA-I&T (JSC, Rússia ou Isotopia, Israel), foram estudados os tempos de reação de 20 minutos, 30 minutos e 40 minutos. Apesar do lutécio-177 possuir um tempo de meia-vida física relativamente longo (6,65

dias), fato que possibilita estender o procedimento de radiomarcção, sem grande prejuízo para o rendimento final da síntese, é sempre importante minimizar o tempo de reação de marcação, considerando-se a condição de aquecimento empregada durante a marcação que pode, por si só, degradar estruturas proteicas. Entretanto, alguns minutos a mais de reação podem ser decisivos para garantir um rendimento de síntese elevado, o que se torna bastante atrativo, considerando-se o custo elevado do radionuclídeo e do peptídeo empregados e, principalmente, a possibilidade de se obter o produto acabado sem a necessidade de purificação final.

### 6.3. Marcação de $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T para obter dose terapêutica

Após concluir o estudo de avaliação da influência dos parâmetros de marcação, realizou-se o escalonamento para preparar doses terapêuticas do radiofármaco  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T (740 MBq), calibradas para 48 horas, empregando-se as condições otimizadas estabelecidas. Nas marcações utilizou-se razão molar peptídeo:lutécio 4,0; atividade de 9.250 MBq (250 mCi) de cloreto de lutécio-177 e massa de PSMA-I&T compatível com a razão molar escolhida.

Utilizou-se lutécio-177 com carregador, obtido de dois fornecedores internacionais, identificados como *Fornecedor A* e *Fornecedor B*. A atividade específica do lutécio-177, na data das preparações foi de 707,0 GBq/mg (19,10 Ci/mg) para o *Fornecedor A* e 1072 GBq/mg (28,98 Ci/mg) para o *Fornecedor B*.

Utilizou-se 1,0 mL do tampão ascorbato de sódio 0,5 M pH 4,7. A reação ocorreu em frasco de vidro tipo I com rolha e respiro, em bloco de aquecimento, à 90 °C, por 30 minutos. Ao final do tempo de reação de marcação, aguardou-se cerca de 5 minutos para resfriamento da mistura e acrescentou-se 0,5 mL de solução de DTPA (4 mg/mL). A solução de DTPA é acrescentada após a preparação de doses terapêuticas, funcionando como agente quelante para sequestrar o lutécio-177 livre presente na solução ao final da marcação, ou resultante de decomposição do radiofármaco<sup>97</sup>.

A pureza radioquímica foi determinada por CCD-SG e CLAE, imediatamente, 24 horas e 48 horas após as marcações para avaliar a estabilidade das preparações terapêuticas.

#### 6.4. Desenvolvimento dos métodos de controle de qualidade de pureza radioquímica

A pureza radioquímica é definida como a porcentagem do total da radioatividade que se encontra na forma radioquímica desejada, neste caso, na forma de  $^{177}\text{Lu-PSMA-I\&T}$ .

Para determinar a pureza radioquímica da radiomarcção de  $^{177}\text{Lu-PSMA-I\&T}$ , foram utilizados dois métodos de controle de qualidade, a saber: cromatografia em camada delgada de sílica gel (CCD-SG) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Na preparação de  $^{177}\text{Lu-PSMA-I\&T}$ , as impurezas podem se apresentar na forma de lutécio-177 livre (forma catiônica  $^{177}\text{Lu}^{+3}$ ), na forma de óxido de lutécio [ $^{177}\text{Lu}(\text{OH})_3$ ] ou como lutécio-177 ligado ao quelante DTPA (quando este excipiente for agregado ao produto ao final da marcação) e eventuais produtos de degradação do radiofármaco. As impurezas podem ser decorrentes da radiomarcção inadequada, decomposição do peptídeo, mudança do pH ou da exposição a agentes redutores ou oxidantes<sup>60</sup>.

O sistema de CCD-SG é o método utilizado para detectar e quantificar as impurezas radioquímica na forma livre catiônica ( $^{177}\text{Lu}^{+3}$ ) ou complexada ao DTPA. Porém, não é capaz de separar os estereoisômeros e os produtos de degradação da molécula. Por outro lado, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é capaz de separar e quantificar todas as formas de impurezas radioquímicas, incluindo os produtos de degradação do peptídeo, identificando a pureza radioquímica.

Sendo assim, os dois métodos foram utilizados de forma complementar para quantificar a pureza radioquímica do produto ( $^{177}\text{Lu-PSMA-I\&T}$ ). Como o radiofármaco em estudo ainda não possui monografia em Farmacopeia oficial, as especificações dos ensaios limites de pureza radioquímica e impureza, sendo a  $\%PR \geq 95\%$  do pico principal em CLAE e  $\% \text{ Impureza } ^{177}\text{Lu livre} \leq 3\%$  em CCD-SG, foram baseados na monografia do  $^{68}\text{Ga-PSMA-11}$ , descrita na farmacopeia europeia<sup>116</sup>. Também foram considerados os limites de impurezas radioquímicas estabelecidos em monografias de radiofármacos empregados em terapia com outros radioisótopos e que possuem monografias em farmacopeias oficiais, adotando-se critérios mais restritivos. Não existe monografia oficial para radiofármacos que empregam lutécio-177.

### a) Cromatografia em camada delgada de sílica gel (CCD-SG)

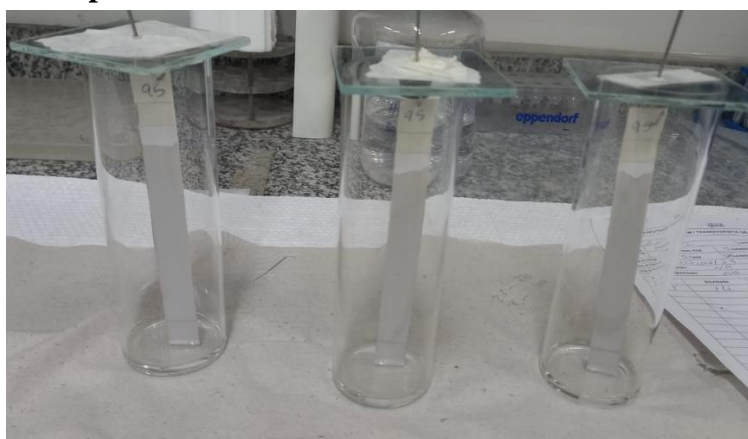
Este método determina a porcentagem da impureza radioquímica lutécio-177. O ensaio foi realizado em Triplicata.

Com a micropipeta, aplicou-se uma alíquota de 2  $\mu\text{L}$  do produto radiomarcado, com concentração radioativa de aproximadamente 37 MBq/mL, sobre as fitas de CCD-SG (1,5 x 12,5 cm) à distância de 1,5 cm da base da fita (figura 11).

Na fase móvel do sistema cromatográfico, utilizou-se uma solução tampão de citrato de sódio 0,1 M pH 5,5. As fitas foram colocadas em contato com a fase móvel contida nas cubas cromatográficas. Ao fim da cromatografia, as fitas foram secas em estufa (aproximadamente 60 °C), cortadas em segmentos de 1 cm e a leitura de radioatividade correspondente a cada segmento foi realizada em contador gama automático tipo poço (Cobra II, Packard, EUA). A porcentagem de impureza radioquímica foi calculada a partir da relação da soma das atividades dos segmentos da impureza ( $R_{f_{\text{impureza}}} = 0,9 - 1,0$ ) pela atividade total da fita, conforme equação 1.

$$\% \text{ Impureza} = \frac{\sum \text{Atividade (Rf 0,9-1,0)}}{\sum \text{Atividade todos segmentos}} \times 100 \quad (1)$$

**Figura 11 - Cubas de Cromatografia em Camada Delgada de Sílica Gel (CCD-SG) – corridas em triplicata**



Cubas de cromatografia em CCD-SG.

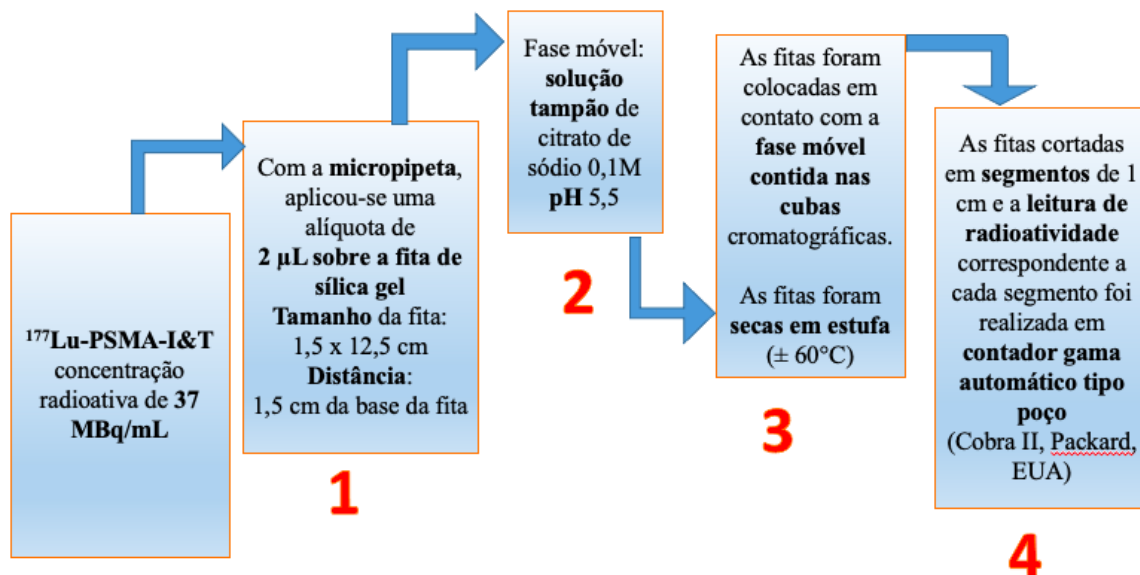


Fitas cortadas CCD-SG 1,5 x 12,5 cm à distância de 1,5 cm da base da fita

**Fonte:** Autor da dissertação

As etapas envolvidas no ensaio de CCD estão discriminadas no diagrama a seguir.

### Procedimento da Cromatografia em Camada Delgada de Sílica Gel (CCD-SG)



O critério de aceitação estabelecido para os resultados foi  $\leq 3\%$  de  $^{177}\text{Lu}$  livre do total da atividade (Rf 0,9-1,0).

### b) Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A CLAE é um sistema cromatográfico que tem como objetivo apontar contaminantes e/ou produtos de degradação, ou outras espécies radioativas presentes no produto ou produtos secundários da amostra com finalidade de avaliar a estabilidade do radiomarcado  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, frente às condições de armazenamento.

Para análise por CLAE (Shimadzu equipado com detector faixa UV 190 – 300 nm e detector de radiação gama, Raytest) foram injetados 100  $\mu\text{L}$  da amostra, com concentração 1 mCi/mL, no sistema cromatográfico com coluna C18 (150 mm x 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), fase reversa, utilizando como fase móvel: água + TFA 0,1% (solvente A) e acetonitrila + TFA 0,1% (solvente B). Para uma melhor separação utilizou-se o seguinte modo gradiente: 0-8 minutos; 76% (A); 8-10 minutos 60% (A) e 10-18 minutos 60% (A), utilizando um fluxo de 0,6 mL/minuto a temperatura constante de 24°C.

O critério de aceitação estabelecido para os resultados foi  $\geq 95\%$  do total da atividade correspondente ao pico principal da análise de CLAE correspondente ao  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T (Rt 15 min).

## 7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação das condições de marcação do peptídeo  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, produzido a partir de reação (n, gama) de  $^{176}\text{Lu}$ , foram estudados os parâmetros de marcação: pH (a partir da variação do pH do tampão ascorbato de sódio utilizado na marcação), razão molar PSMA-I&T:Lu, tempo e temperatura da marcação. Para o estudo de cada parâmetro, os demais permaneceram inalterados, considerada a seguinte “condição inicial de marcação”: razão molar PSMA-I&T:Lu de 4,0, pH do tampão de 4,7, tempo de reação de 30 minutos e temperatura de reação de 90 °C.

O critério de aceitação estabelecido, frente ao qual os resultados dos estudos foram analisados foi:  $\leq 3\%$  do total da atividade correspondente ao  $^{177}\text{Lu}$  livre na análise de CCD-SG (Rf 0,9-1,0) e  $\geq 95\%$  do total da atividade correspondente ao pico principal da análise de CLAE (Rt de aproximadamente 15 minutos).

Apresentam-se a seguir os resultados de avaliação dos parâmetros de marcação do peptídeo  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T.

### 7.1 Avaliação da influência do parâmetro pH na marcação do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T

A tabela 1 apresenta o resultado do estudo de avaliação da **influência do pH do tampão** na porcentagem de pureza radioquímica (%PR) da marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, avaliada por cromatografia em camada delgada (CCD-SG) de sílica gel (TLC-SG), imediatamente após a marcação e após 24 e 48 horas, mediante armazenamento sob congelamento ( $\leq -20$  °C).

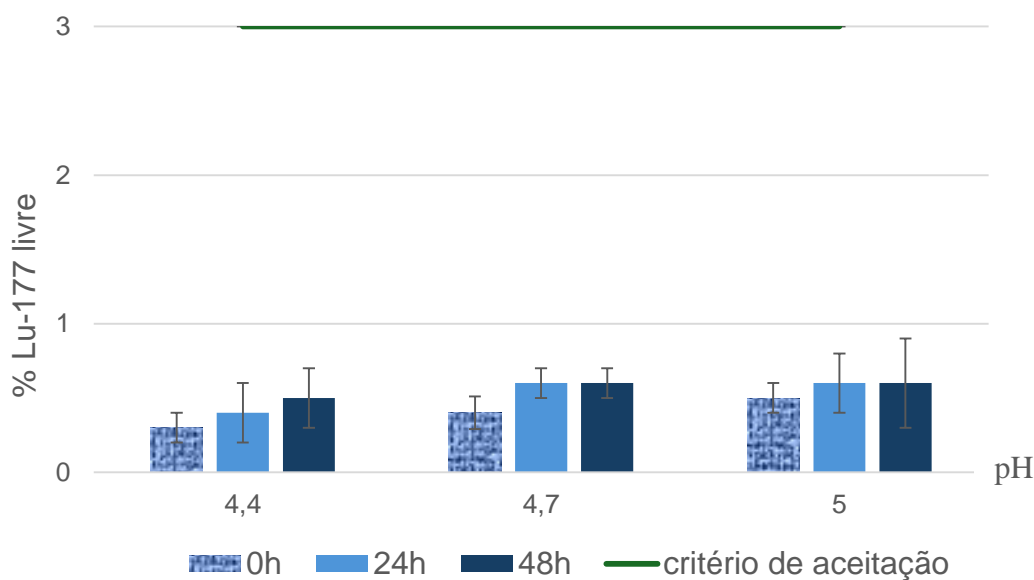
**Tabela 1 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR) do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CCD-SG: avaliação da influência do pH de marcação**

Parâmetro pH	Porcentagem de Pureza Radioquímica (%PR) em CCD-SG			Número de marcações
	imediatamente	24h	48h	
<b>4,4</b>	99,7 $\pm$ 0,1	99,6 $\pm$ 0,2	99,5 $\pm$ 0,2	3
<b>4,7</b>	99,8 $\pm$ 0,1	99,7 $\pm$ 0,1	99,8 $\pm$ 0,1	6
<b>5,0</b>	99,6 $\pm$ 0,1	99,4 $\pm$ 0,2	99,5 $\pm$ 0,3	2

Como o método de CCD-SG destina-se apenas a determinar a porcentagem da impureza radioquímica lutécio-177 na forma livre, torna-se mais representativo apresentar os resultados das análises de CCD-SG para a variação do pH de marcação em termos de % de lutécio-177 livre (% da

impureza radioquímica), conforme figura 12. Em todos os pH avaliados a % de Lu-177 livre foi inferior a 1%, inclusive nos estudos de estabilidade de 24 e 48h.

**Figura 12 - Gráfico de porcentagem de lutécio-177 livre nas preparações de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T em CCD-SG: avaliação da influência do pH do tampão**

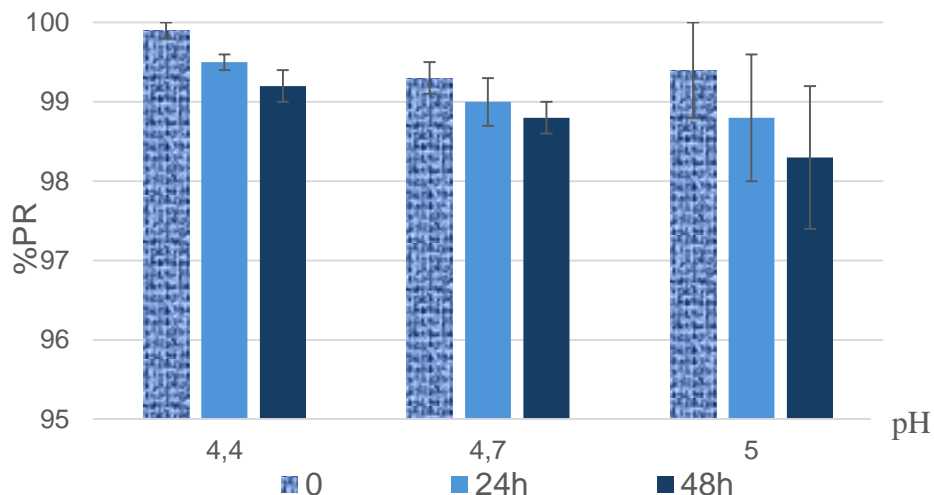


A tabela 2 e figura 13 apresentam o resultado do estudo de avaliação da **influência do pH do tampão** na porcentagem de pureza radioquímica (%PR) da marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, avaliada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) imediatamente após a marcação e após 24 e 48 horas, mediante armazenamento sob congelamento ( $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). As análises em CLAE foram realizadas para as mesmas amostras analisadas em CCD-SG. As porcentagens são correspondentes ao pico principal do espectro de CLAE ( $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T).

**Tabela 2 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência do pH de marcação**

Parâmetro pH	Porcentagem de Pureza Radioquímica (%PR) em CLAE			Número de marcações
	imediatO	24h	48h	
<b>4,4</b>	99,9 ± 0,1	99,5 ± 0,1	99,2 ± 0,2	3
<b>4,7</b>	99,3 ± 0,2	99,0 ± 0,3	98,8 ± 0,2	6
<b>5,0</b>	99,4 ± 0,6	98,8 ± 0,8	98,3 ± 0,9	2

**Figura 13 - Gráfico de Resultados de porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência do pH de marcação**



Condições empregadas no CLAE: CLAE (Shimadzu, USA), Coluna RP18, 5 $\mu\text{m}$  4,6x150mm, 24°C, gradiente 0-8 min 24% B; 9-18 min 60% B; fluxo 0,6 mL/min, **A**= H<sub>2</sub>O/0,1%TFA, **B**=ACN/0,1%TFA; volume injetado 100  $\mu\text{L}$ .

As figuras 14, 15 e 16 apresentam espectros de CLAE representativos da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T em pH 4,4, 4,7 e 5,0, respectivamente, imediatamente após a marcação e após 24 e 48 horas, mediante armazenamento sob congelamento ( $\leq -20$  °C).

Figura 14 - Espectro de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T em tampão pH 4,4: Imediato; 24 horas; 48 horas

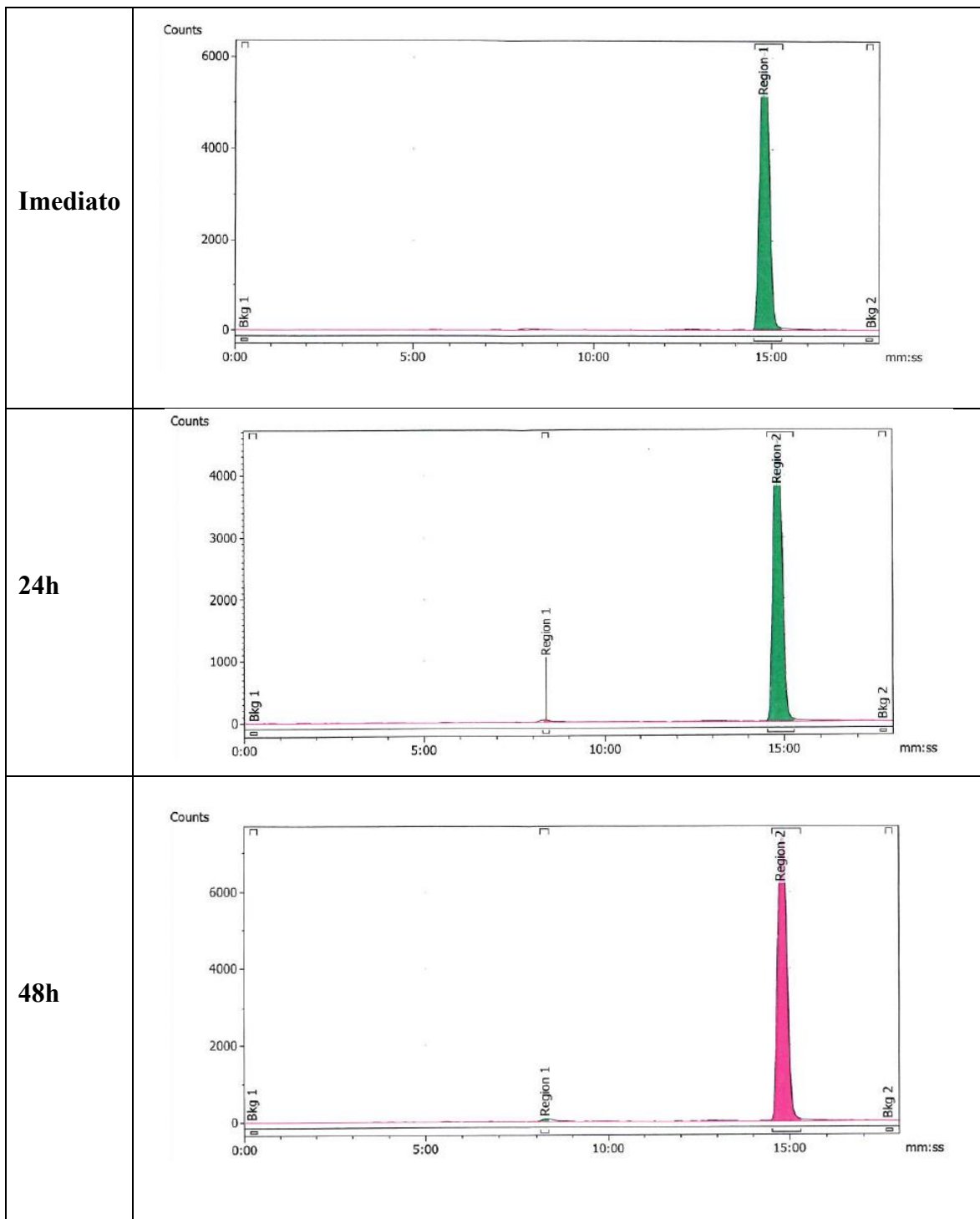


Figura 15 - Espectro de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T em tampão pH 4,7: Imediato; 24 horas; 48 horas

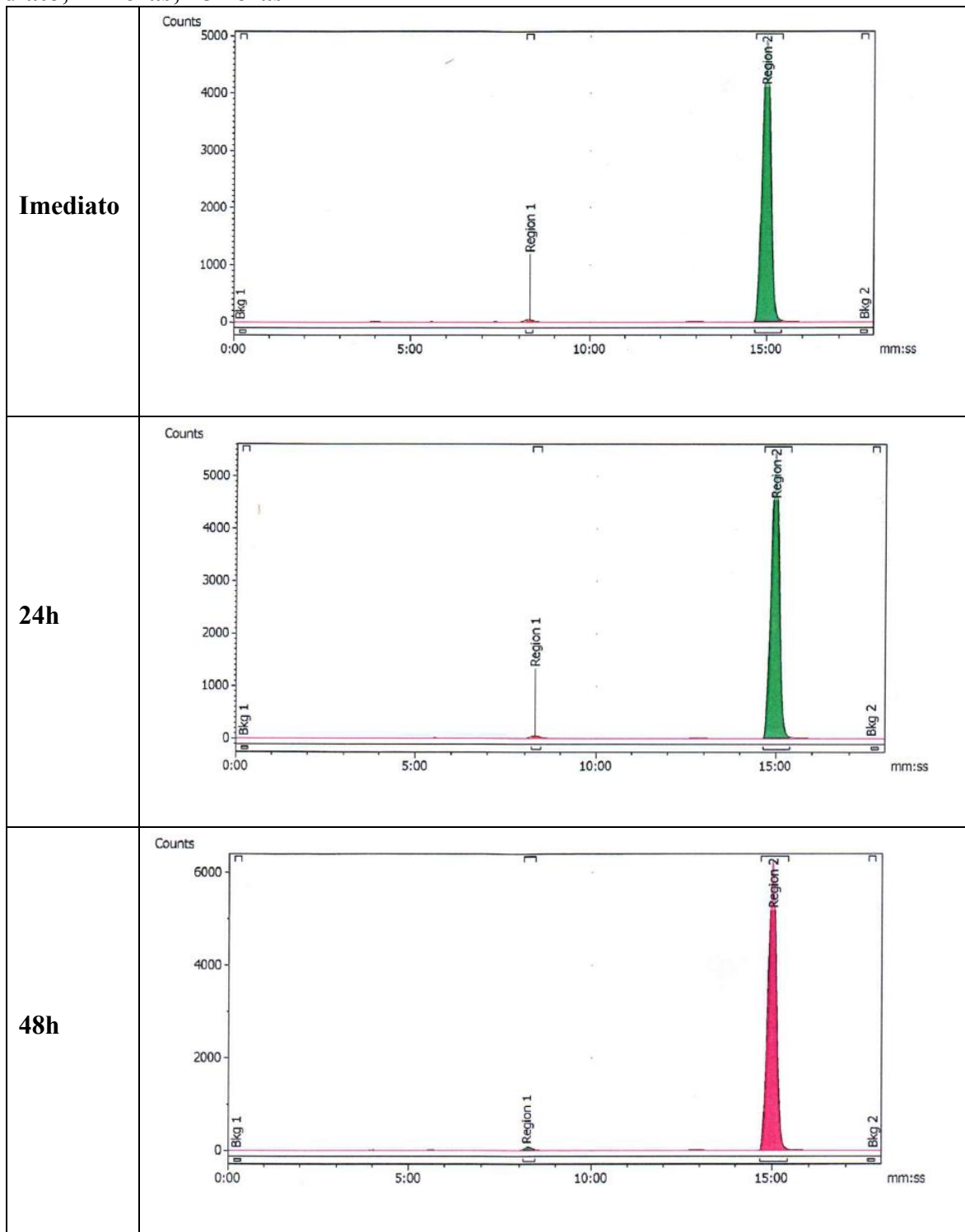
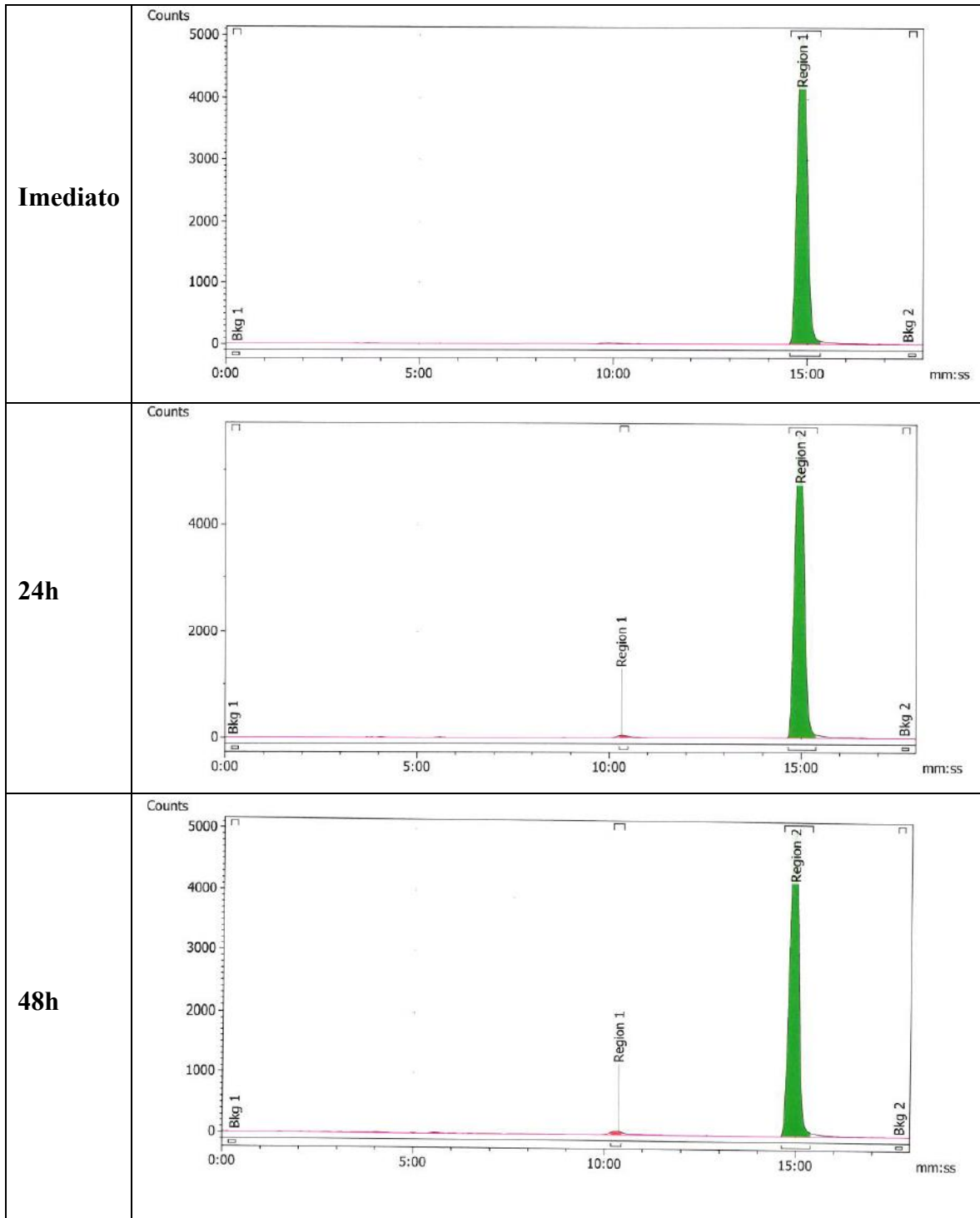


Figura 16 - Espectro de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T em tampão pH 5,0: Imediato; 24 horas; 48 horas



Os resultados obtidos por CLAE nos diferentes pH também atingiram o critério de %PR pré-estabelecido ( $\geq 95\%$  do pico principal), e foram avaliados estatisticamente pelo teste de ANOVA seguido pelo teste de Tukey (GraphPad Prism 8.0.2<sup>®</sup> Software, Inc., San Diego, EUA).

Observa-se para as variações de pH no tempo imediato, um resultado ANOVA sem variação significativa,  $P=0,1369$ , seguido pela análise de Turkey, comparando as variações individualmente, todas apresentaram P-valor maior que 0,05, sendo  $P=0,1270$  entre o pH 4,4 e 4,7;  $P=0,3220$  entre o pH 4,4 e 5,0 e  $P=0,9790$  entre o pH 4,7 e 5,0.

Na análise das variações no tempo de 48 horas, a ANOVA apresenta um P-valor de 0,2702, e resultado de Tukey de  $P=0,5828$  entre o pH 4,4 e 4,7,  $P=0,2446$  entre pH 4,4 e 5,0 e  $P=0,5531$  entre 4,7 e 5,0.

Na variação estudada do pH nos tempos imediato, 24 e 48 horas, não há diferença significativa entre os resultados de CLAE (ANOVA/análise de Turkey) e todos atenderam ao critério de aceitação ( $\geq 95\%$  do pico principal). Escolhemos trabalhar com o pH 4,7 por ser um valor intermediário e estabelecemos um intervalo de trabalho de pH 4,4 a 5,0.

Todos os resultados obtidos no estudo de variação de pH analisados em CCD-SG atingiram porcentagem de <sup>177</sup>Lu livre dentro da especificação ( $\leq 3\%$ ), e sem variação significativa após 24 e 48 horas. Vale ressaltar que o método de CCD-SG consegue identificar apenas a impureza radioquímica lutécio-177 na forma livre, ou seja, a forma catiônica em solução, não ligada ao peptídeo.

Por este motivo, de forma geral, os resultados de %PR obtidos em análise de CLAE são inferiores aos obtidos em análise de CCD-SG no estudo de estabilidade, que compreendem as análises após 24 e 48 horas de armazenamento. Neste caso, o decréscimo na porcentagem de pureza radioquímica deveu-se à formação de espécies radioquímicas diferentes do peptídeo radiomarcado e lutécio-177 livre, identificadas apenas na análise de CLAE, como picos de pequena porcentagem, representando, provavelmente, produtos de degradação do peptídeo radiomarcado. Este fato confirma a importância da utilização do estudo de CLAE na etapa de avaliação dos parâmetros de marcação, particularmente associado à avaliação conjunta da estabilidade.

Por meio dos espectros de CLAE foi possível observar um pequeno decréscimo na %PR da marcação que empregou pH 5,0, nos tempos de 24 e 48 horas após a marcação. A impureza presente nos espectros correspondentes, com tempo de retenção (Rt) de pouco mais de 10 minutos, não estava presente no tempo imediato nem nos espectros de CLAE de marcações realizadas em pH 4,4 ou 4,7. Nestes dois últimos pH, uma impureza radioquímica com Rt de pouco mais de 8 minutos foi identificada nos tempos de 24 e 48 horas.

## 7.2 Avaliação da influência do parâmetro razão molar na marcação do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T

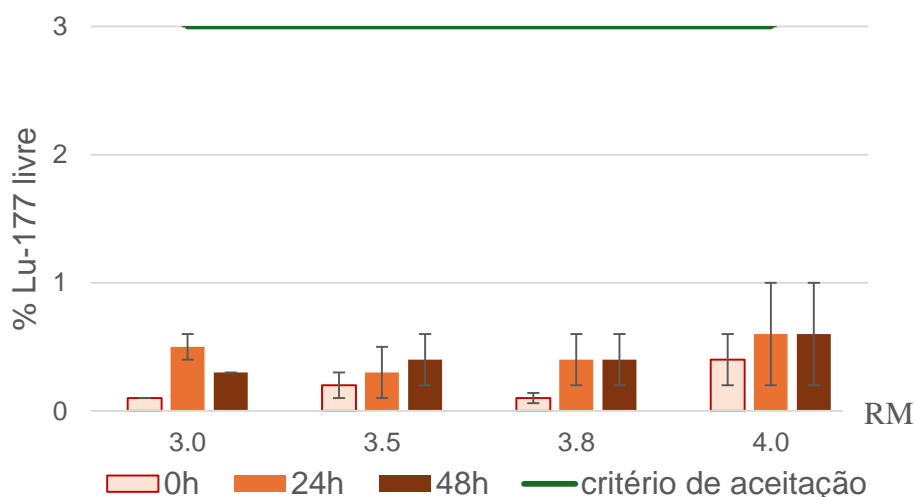
A tabela 3 e figura 17 apresentam o resultado do estudo de avaliação da **influência da razão molar PSMA-I&T:Lu** na porcentagem de pureza radioquímica (%PR) da marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, avaliada por CCD-SG, imediatamente após a marcação e após 24 e 48 horas, mediante armazenamento sob congelamento ( $\leq -20\text{ }^\circ\text{C}$ ).

**Tabela 3 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR) do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CCD-SG: avaliação da influência da razão molar (RM) PSMA-I&T: $^{177}\text{Lu}$**

Parâmetro Razão Molar	Porcentagem de Pureza Radioquímica (%PR) em CCD-SG			Número de marcações
	imediatamente	24h	48h	
3,0	99,9 ± 0,0	99,6 ± 0,0	99,7 ± 0,0	2
3,5	99,8 ± 0,1	99,7 ± 0,2	99,6 ± 0,2	4
3,8	99,9 ± 0,1	99,6 ± 0,2	99,6 ± 0,2	3
4,0	99,8 ± 0,1	99,7 ± 0,1	99,8 ± 0,1	6

Da mesma forma que para os parâmetros anteriormente estudados, os resultados de CCD-SG são melhor representados por meio da porcentagem da impureza  $^{177}\text{Lu}$  livre, conforme Figura 17.

**Figura 17 - Gráfico da porcentagem de lutécio-177 livre nas preparações de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T em CCD-SG: avaliação da influência da razão molar (RM) PSMA-I&T:Lu**



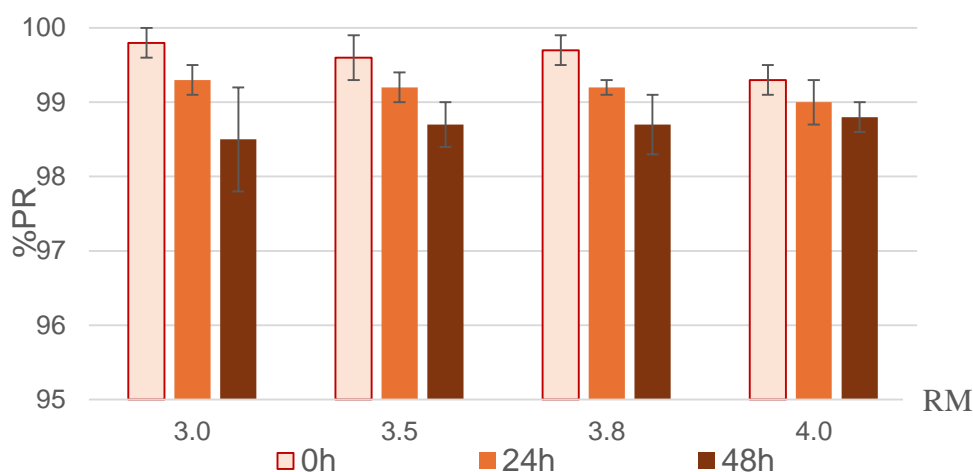
A tabela 4 e figura 18 apresentam o resultado do estudo de avaliação da **influência da razão molar PSMA-I&T:Lu** na porcentagem de pureza radioquímica (%PR) da marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, avaliada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) imediatamente após a marcação e após 24 e 48 horas, mediante armazenamento sob congelamento ( $\leq -20\text{ }^\circ\text{C}$ ). As análises em CLAE foram realizadas para as mesmas amostras analisadas em CCD-SG. As porcentagens são correspondentes ao pico principal do espectro de CLAE ( $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T).

Para CCD-SG a variação estudada da Razão Molar nos tempos imediato, 24 horas e 48 horas apresentou resultados semelhantes e atendendo aos critérios de aceitação ( $\leq 3\%$  de  $^{177}\text{Lu}$  livre).

**Tabela 4 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência da razão molar (RM) PSMA-I&T:Lu**

Parâmetro Razão Molar	Porcentagem de Pureza Radioquímica (%PR) em CLAE			Número de marcações
	imediato	24h	48h	
3,0	99,8 ± 0,2	99,3 ± 0,2	98,5 ± 0,7	2
3,5	99,6 ± 0,3	99,2 ± 0,2	98,7 ± 0,3	4
3,8	99,7 ± 0,2	99,2 ± 0,1	98,7 ± 0,4	3
4,0	99,3 ± 0,2	99,0 ± 0,3	98,8 ± 0,2	6

**Figura 18 - Gráfico de Resultados de porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência da razão molar (RM) PSMA-I&T:Lu**



Condições empregadas no CLAE: CLAE (Shimadzu, USA), Coluna RP18, 5 $\mu\text{m}$  4,6x150mm, 24°C, gradiente 0-8 min 24% B; 9-18 min 60% B; fluxo 0,6 mL/min, A= H<sub>2</sub>O/0,1%TFA, B=ACN/0,1%TFA; volume injetado 100  $\mu\text{L}$ .

As figuras 19, 20, 21 e 22 apresentam espectros de CLAE representativos da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T nas razões molares PSMA-I&T: Lu de 3,0, 3,5, 3,8 e 4,0, respectivamente, imediatamente após a marcação e após 24 e 48 horas, mediante armazenamento sob congelamento ( $\leq -20\text{ }^\circ\text{C}$ ).

Figura 19 - Espectro de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T na razão molar PSMA-I&T:Lu de 3,0: Imediato; 24 horas; 48 horas

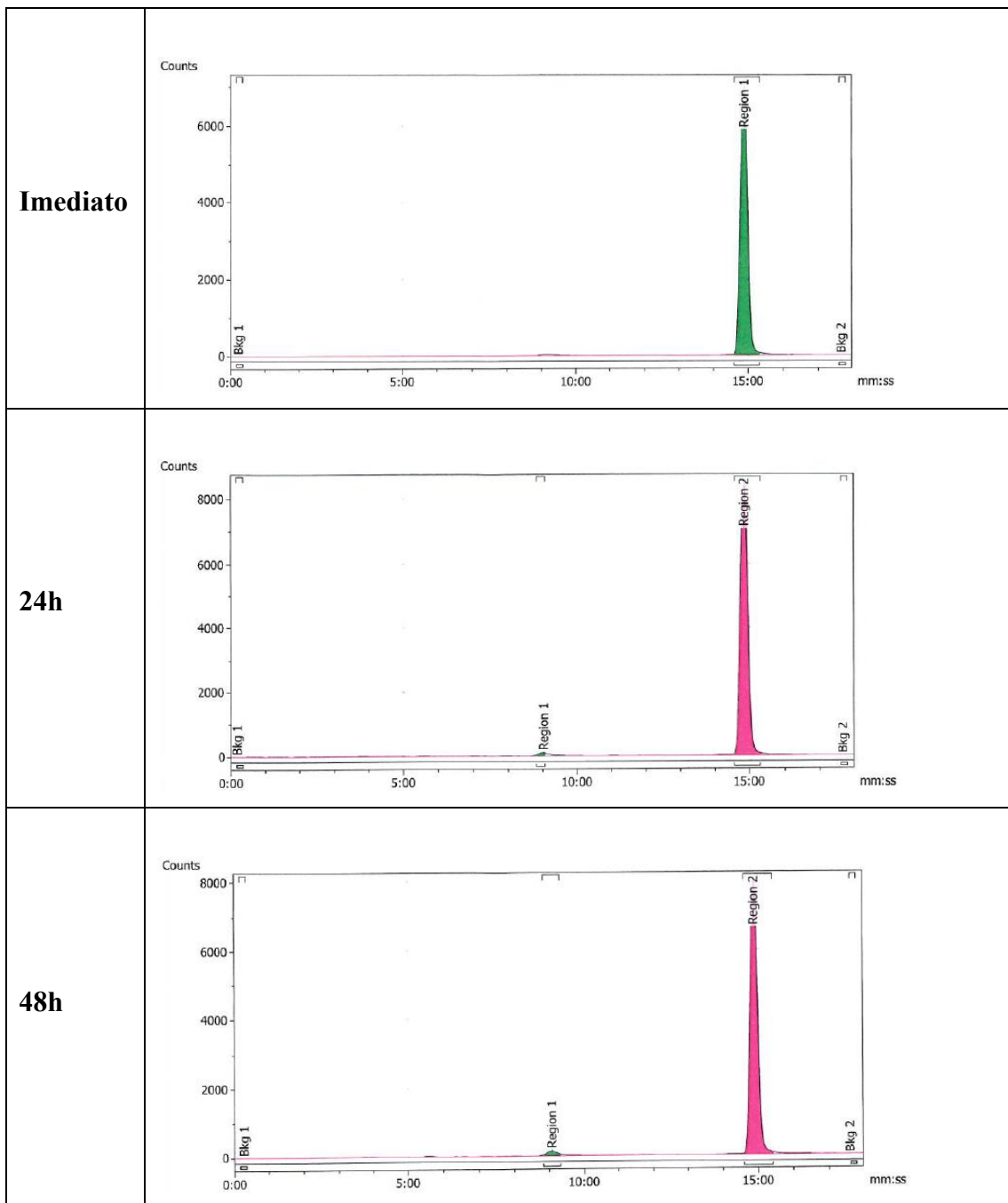


Figura 20 - Espectro de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T na razão molar PSMA-I&T:Lu de 3,5: Imediato; 24 horas; 48 horas

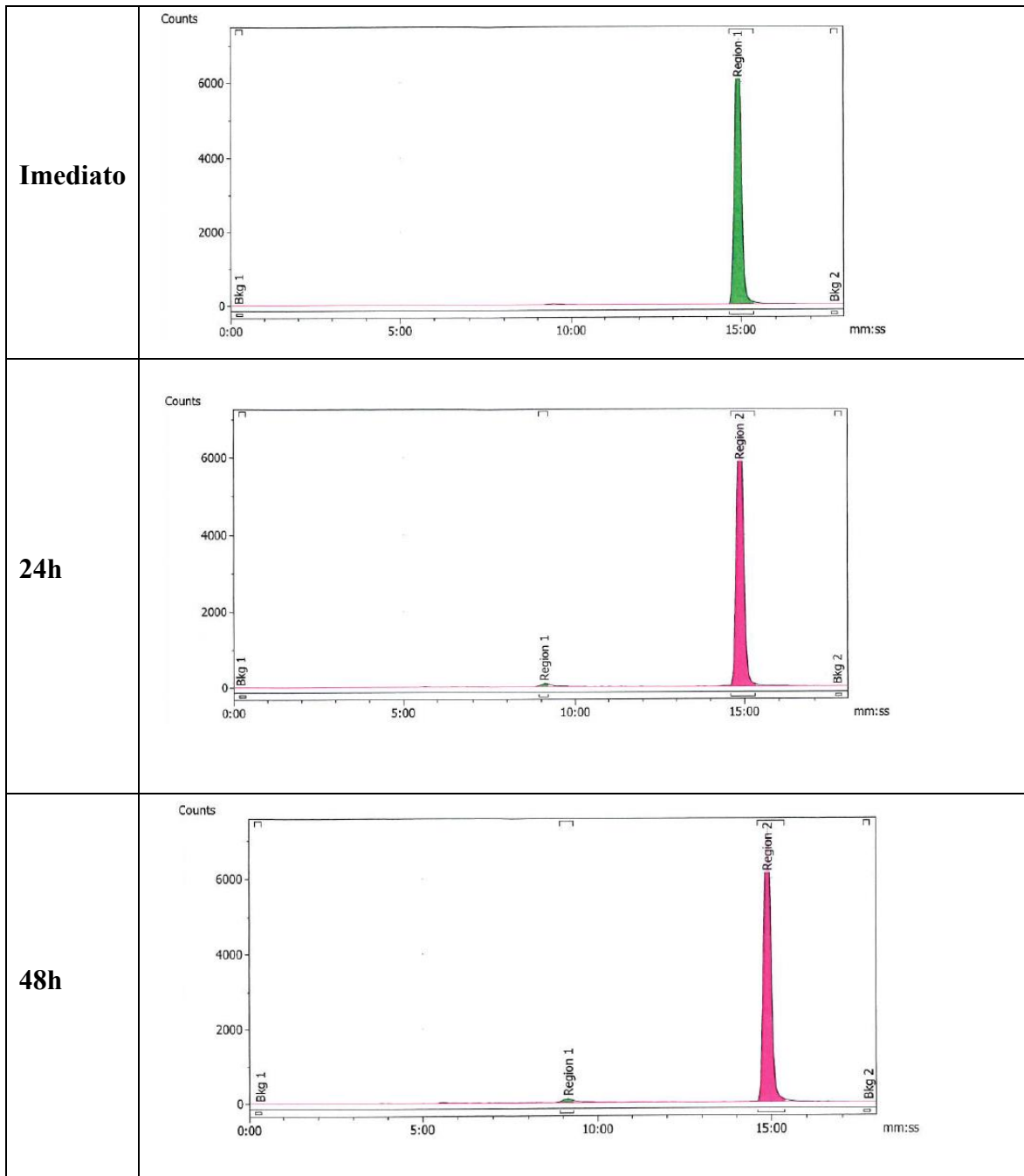


Figura 21 - Espectro de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T na razão molar PSMA-I&T:Lu de 3,8: Imediato; 24 horas; 48 horas

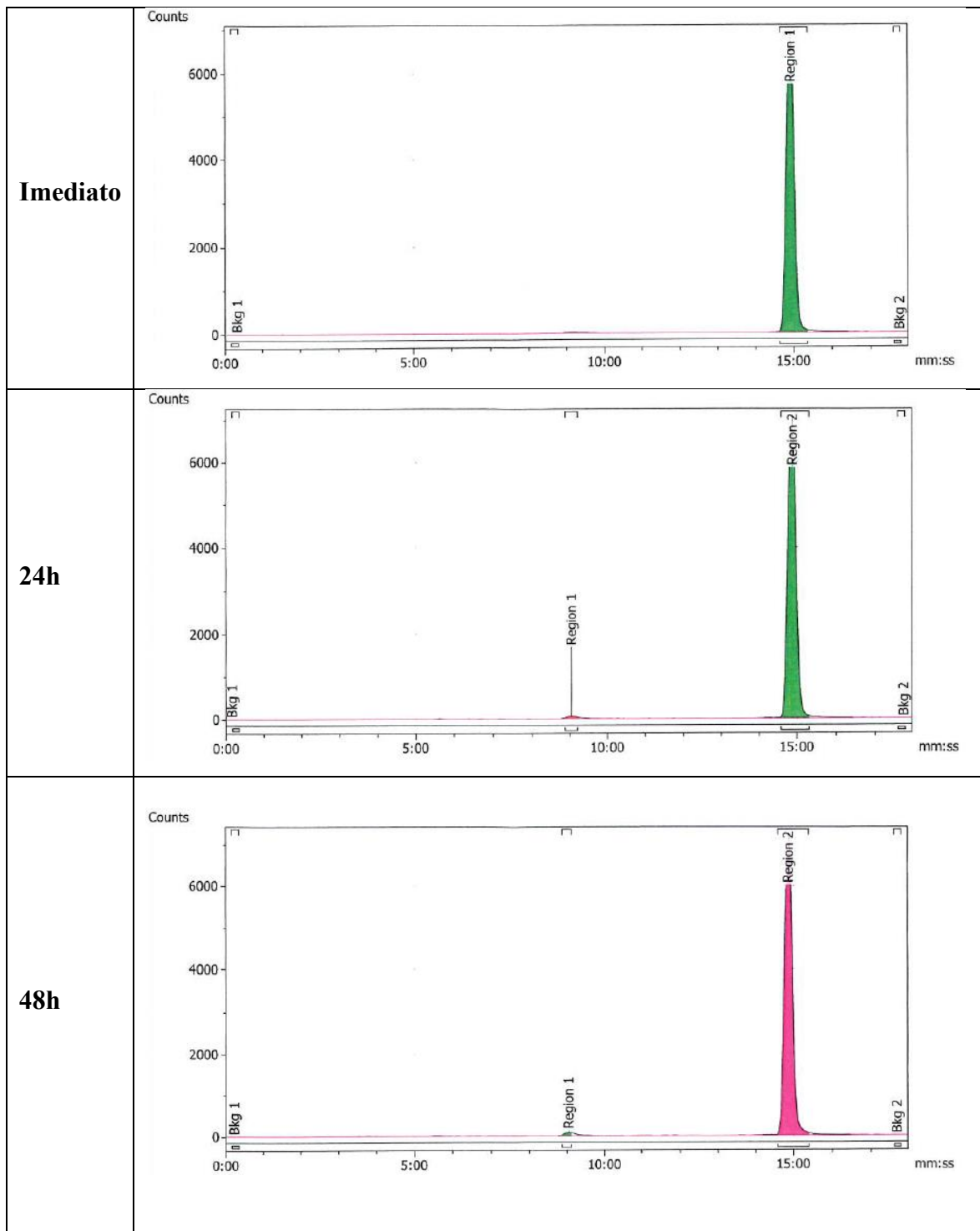
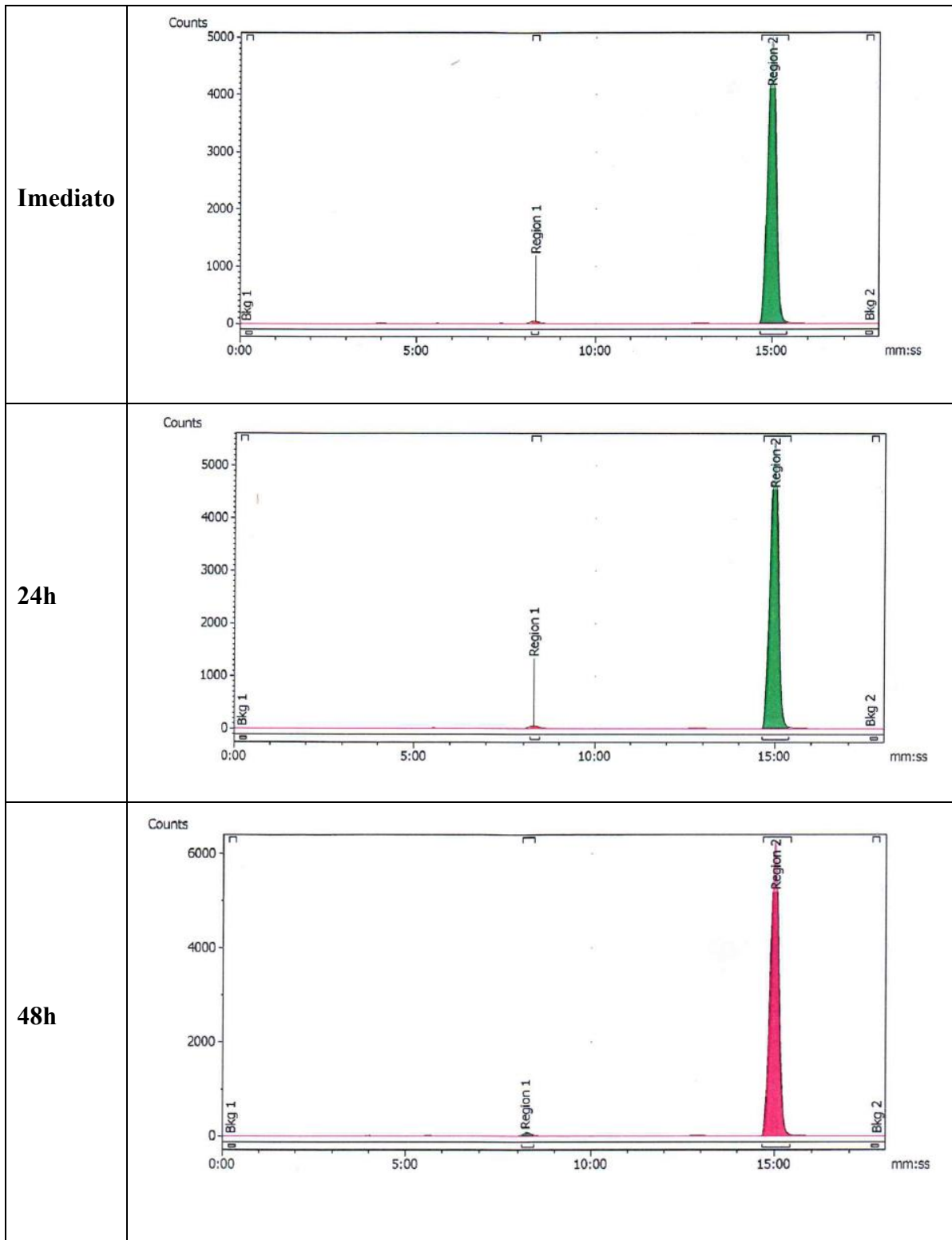


Figura 22 - Espectro de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T na razão molar PSMA-I&T:Lu de 4,0: Imediato; 24 horas; 48 horas



Da mesma forma que no estudo de variação de pH, a análise de %PR em CCD-SG não apresentou variação representativa entre as diferentes razões molares e no estudo de estabilidade de 24 e 48 horas, o decréscimo da %PR foi mínimo, devendo-se apenas à identificação da espécie lutécio-177 livre.

As variações de razão molar (3,0; 3,5; 3,8; e 4,0), avaliadas por CLAE não apresentaram diferença significativa nos tempos imediato e 48h, apresentando respectivamente ANOVA  $P=0,3060$  e  $P=0,8312$ . Todas as razões molares promoveram resultados de %PR que atendem ao critério de aceitação ( $\geq 95\%$  do pico principal) para o tempo imediato, bem como para os tempos de 24 e 48 horas, com amostras armazenadas sob congelamento ( $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

O tempo imediato apresenta resultado de Tukey entre as variáveis: 3,0 e 3,5  $P=0,8282$ ; 3,0 e 3,8  $P=0,9918$ ; 3,0 e 4,0  $P=0,3837$ ; 3,5 e 3,8  $P=0,9196$ ; 3,5 e 4,0  $P=0,7711$  e 3,8 e 4,0  $P=0,4359$ . Para o tempo de 48h o resultado de Tukey entre as variáveis foi: 3,0 e 3,5  $P=0,9730$ ; 3,0 e 3,8  $P=0,9435$ ; 3,0 e 4,0  $P=0,8111$ ; 3,5 e 3,8  $P=0,9978$ ; 3,5 e 4,0  $P=0,9438$  e 3,8 e 4,0  $P=0,9891$ .

Em todos os espectros de CLAE do estudo de variação da razão molar, observa-se um pico principal, correspondente ao peptídeo radiomarcado e o aparecimento de um segundo pico, com  $R_t$  de pouco mais de 8 minutos, especialmente nos espectros de CLAE correspondentes aos tempos de 24 e 48 horas do estudo de estabilidade das marcações. Esta impureza radioquímica também foi observada no estudo de estabilidade de variação de pH para os pH de 4,4 e 4,7. Sendo o pH 4,7 empregado no estudo de variação da razão molar, e a porcentagem desta impureza praticamente igual em todas as razões molares avaliadas, é razoável supor que tal impureza radioquímica não apresenta correlação com a razão molar empregada.

Do estudo de variação da razão molar, acompanhado do estudo de estabilidade, pode-se concluir que todas as razões molares estudadas conduziram a resultados satisfatórios de %PR e estabilidade do radiofármaco. Entretanto, é importante considerar que as marcações foram realizadas com baixa atividade, cerca de 740 MBq (20 mCi), fato que pode ter corroborado para os resultados de %PR elevados nos estudos de estabilidade. Para definição da razão molar PSMA-I&T: $^{177}\text{Lu}$ , estudos de radiomarcção com atividade alta, compatível com a produção de doses terapêuticas do radiofármaco, deverão ser realizados, para confirmar a estabilidade da dose terapêutica na razão molar escolhida.

A definição da razão molar peptídeo:radionuclídeo é o principal parâmetro a ser considerado no estudo de determinação das condições de marcação, com influência direta na estabilidade do

peptídeo radiomarcado. Um excesso molar de peptídeo é requerido para garantir a eficiência de radiomarcagem e a estabilidade do peptídeo radiomarcado. Porém, deve-se buscar trabalhar com a menor razão molar possível, produzindo um radiofármaco com atividade específica (atividade/unidade de massa do peptídeo) alta, particularmente quando o radiofármaco for receptor-específico, evitando-se administrar ao paciente um excedente do peptídeo não radiomarcado que irá competir pelos receptores das células tumorais.

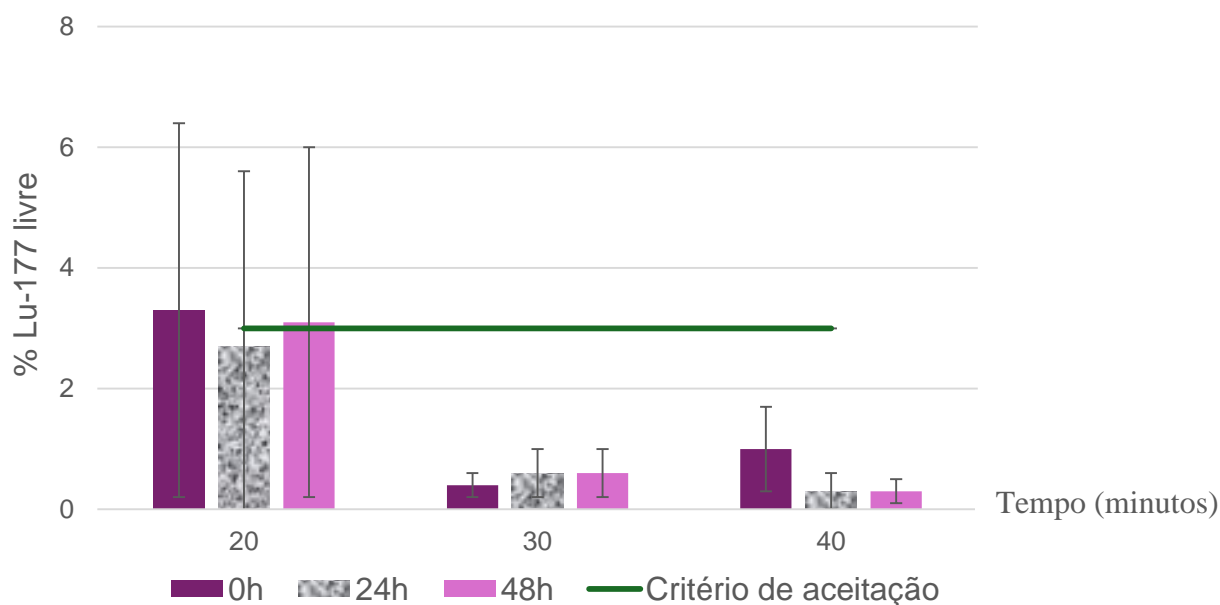
### 7.3 Avaliação da influência do parâmetro tempo na marcação do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T

A tabela 5 e figura 23 apresentam os resultados do estudo de avaliação da **influência do tempo** na porcentagem de pureza radioquímica (%PR) da marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, avaliada por CCD-SG, imediatamente após a marcação e após 24 e 48 horas, mediante armazenamento sob congelamento ( $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

**Tabela 5 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR) do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CCD-SG: avaliação da influência do tempo de marcação**

Parâmetro Tempo (minutos)	Porcentagem de Pureza Radioquímica (%PR) em CCD-SG			Número de marcações
	imediatamente	24h	48h	
20	93,6 ± 2,3	94,7 ± 3,3	94,2 ± 3,0	4
30	99,8 ± 0,1	99,7 ± 0,1	99,8 ± 0,1	6
40	99,6 ± 0,3	99,7 ± 0,3	99,7 ± 0,1	3

**Figura 23 - Gráfico Porcentagem de lutécio-177 livre nas preparações de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T em CCD-SG: avaliação da influência do tempo de marcação**

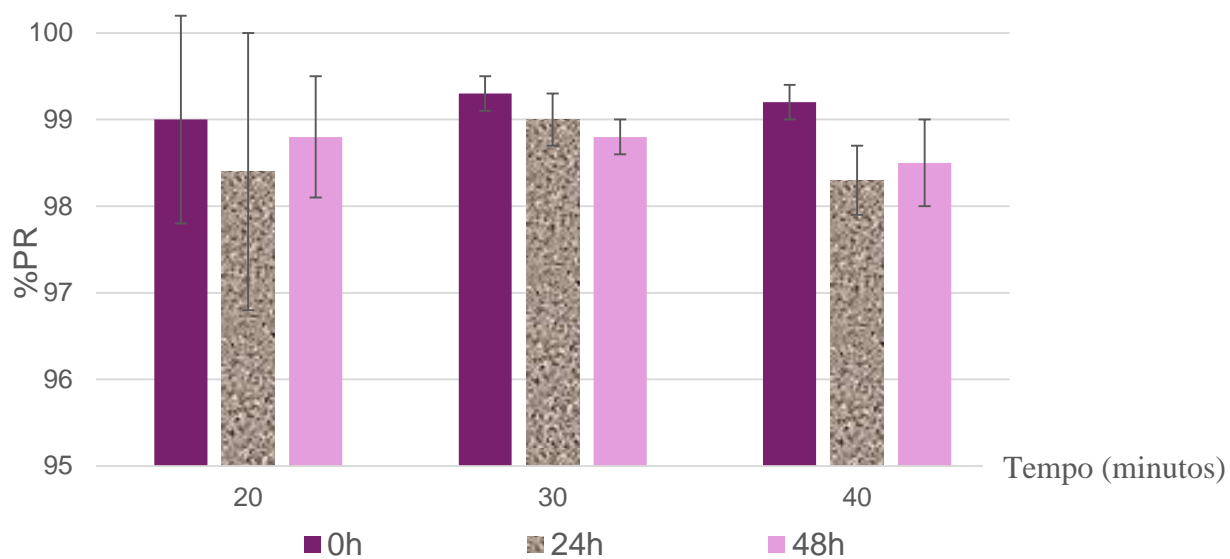


A tabela 6 e figura 24 apresentam os resultados do estudo de avaliação da **influência do tempo** na porcentagem de pureza radioquímica (%PR) da marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, avaliada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) imediatamente após a marcação e após 24 e 48 horas, mediante armazenamento sob congelamento. As análises em CLAE foram realizadas para as mesmas amostras analisadas em CCD-SG. As porcentagens são correspondentes ao pico principal do espectro de CLAE ( $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T).

**Tabela 6 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência do tempo de marcação**

Parâmetro Tempo (minutos)	Porcentagem de Pureza Radioquímica (%PR) em CLAE			Número de marcações
	imediatamente	24h	48h	
20	99,0 ± 1,2	98,4 ± 1,6	98,8 ± 0,7	4
30	99,3 ± 0,2	99,0 ± 0,3	98,8 ± 0,2	6
40	99,2 ± 0,2	98,3 ± 0,4	98,5 ± 0,5	3

**Figura 24 - Gráfico Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do <sup>177</sup>Lu-PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência do tempo de marcação**



Condições empregadas no CLAE: CLAE (Shimadzu, USA), Coluna RP18, 5 $\mu$ m 4,6x150mm, 24°C, gradiente 0-8 min 24% B; 9-18 min 60% B; fluxo 0,6 mL/min, A= H<sub>2</sub>O/0,1%TFA, B=ACN/0,1%TFA; volume injetado 100  $\mu$ L.

**Fonte:** Autor da dissertação

As figuras 25, 26, e 27 apresentam espectros de CLAE representativos da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T nos tempos 20, 30 e 40 minutos, respectivamente, imediatamente após a marcação e após 24 e 48 horas, mediante armazenamento sob congelamento ( $\leq -20\text{ }^\circ\text{C}$ ).

**Figura 25 - Espectro de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T no tempo de 20 minutos: Imediato; 24 horas; 48 horas**

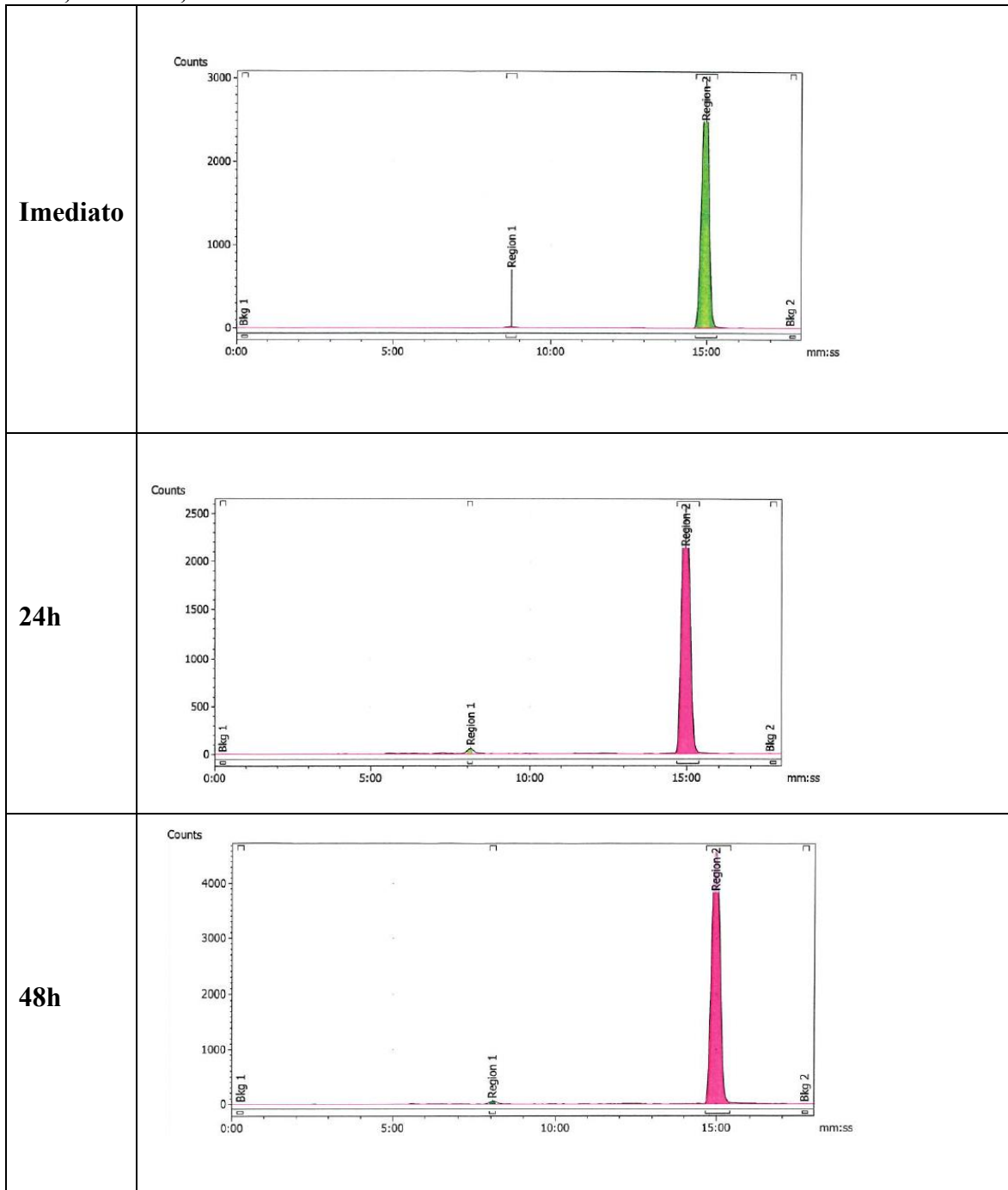


Figura 26 - Espectro de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T no tempo de 30 minutos: Imediato; 24 horas; 48 horas

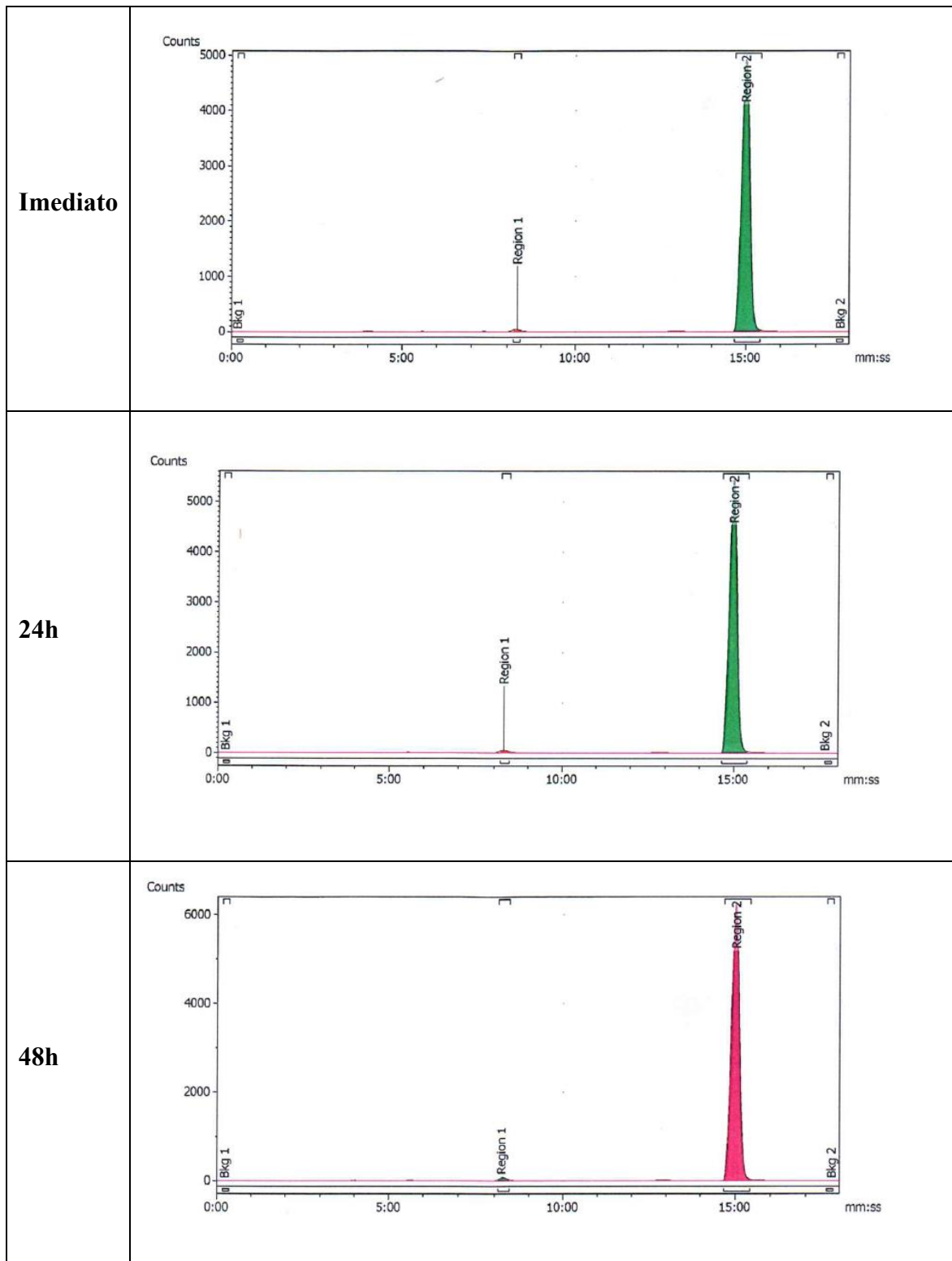
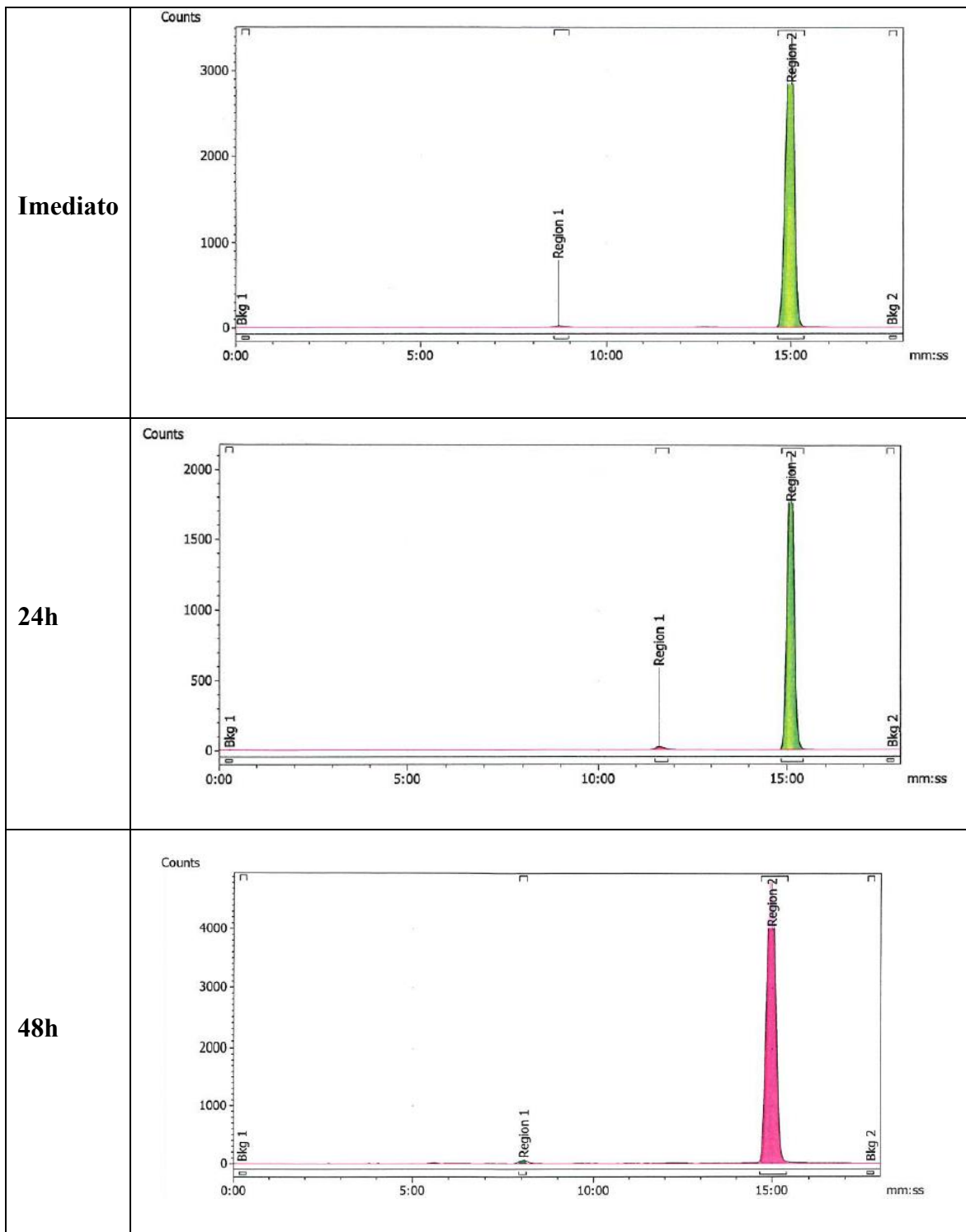


Figura 27 - Espectro de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T no tempo de 40 minutos: Imediato; 24 horas; 48 horas



No caso do estudo de variação do tempo de marcação na análise de CCD-SG foi observada redução na %PR para o tempo de 20 minutos, quando comparada aos tempos de 30 e 40 minutos, com aumento da porcentagem de lutécio-177 na forma livre, fato que indica que o tempo de 20 minutos foi insuficiente para promover a complexação quantitativa do lutécio-177 ao quelante do peptídeo, na porcentagem observada para os tempos maiores.

O decréscimo na %PR para o tempo de 20 minutos não foi observado na análise de CLAE, confirmando que este método não é adequado para determinação da porcentagem de lutécio livre presente na marcação. Sendo assim, a utilização de ambos os métodos cromatográficos é imprescindível, sendo métodos complementares na determinação da %PR da marcação, cujo critério deverá considerar, para liberação de lotes de produção do radiofármaco  $^{177}\text{Lu-PSMA-I\&T}$ , a %PR determinada no método de CLAE ( $\geq 95\%$  do pico principal) e a porcentagem da impureza lutécio-177 livre ( $\leq 3\%$ ), determinada pelo método de CCD-SG.

A análise das médias das variações de tempo de marcação (20, 30 e 40 minutos) para a análise de CLAE apresentaram ANOVA  $P=0,8396$  e  $P=0,8129$ , respectivamente para os resultados imediato e 48h após a marcação, demonstrando que não há diferença significativa entre as médias dos resultados de %PR.

Utilizando a análise Tukey, observa-se um p-valor para os tempos imediato e 48h, respectivamente, para as variações 20 e 30 minutos  $P= 0,8268$  e  $P= 0,9995$ ; 20 e 40 minutos  $P= 0,9672$  e  $P= 0,8357$  e 30 e 40 minutos  $P= 0,9592$  e  $P= 0,8267$ . Todos os resultados apresentados pelo método de Tukey demonstram que não há variação significativa entre as médias das variáveis de tempo.

Apesar da avaliação estatística realizada nos resultados de CLAE indicar não haver diferença significativa no resultado de %PR para os tempos estudados, tanto para o tempo imediato como para o estudo de estabilidade, no caso específico do parâmetro tempo, considera-se o tempo de 20 minutos insuficiente, dado o resultado do estudo de CCD-SG. Na variação estudada do tempo de marcação foi observado na análise CCD-SG um aumento da porcentagem de lutécio-177 livre no tempo de 20 minutos, indicando que o tempo de 20 minutos foi insuficiente para atender ao critério de aceitação ( $\leq 3\%$  de  $^{177}\text{Lu}$  livre). Escolhemos o tempo de 30 minutos por ser um tempo intermediário. O tempo de 30 minutos foi considerado ideal, uma vez que não houve incremento na %PR ao se utilizar o tempo de 40 minutos. Apesar disso, foi importante observar que o tempo de 40 minutos não promoveu degradação do peptídeo, podendo ser considerado como um intervalo de tempo satisfatório.

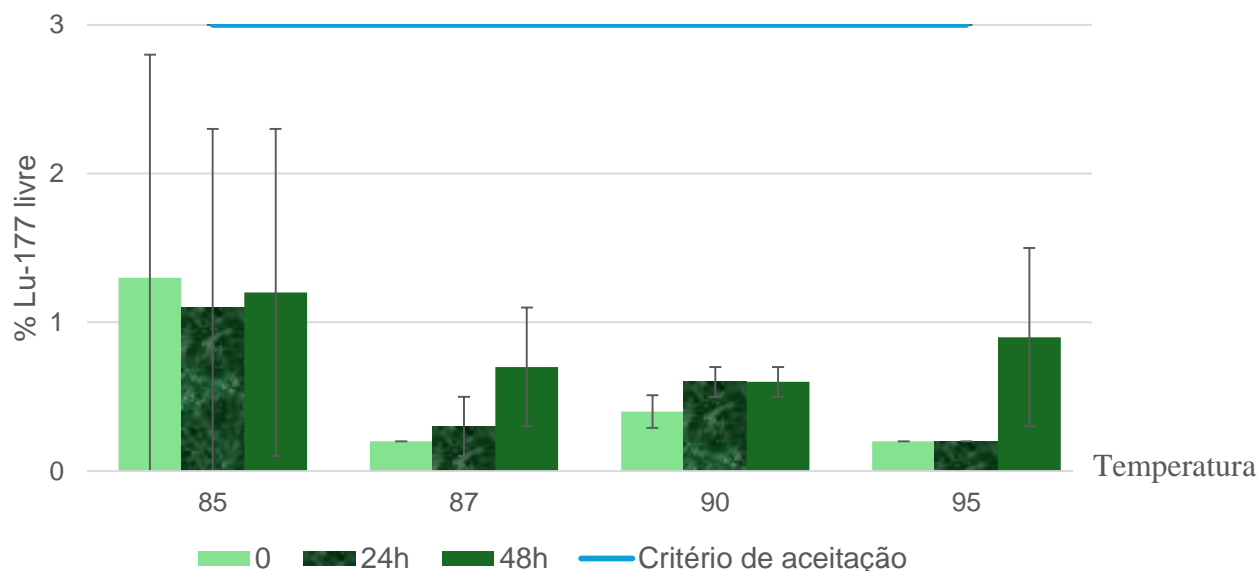
## 7.4 Avaliação da influência do parâmetro temperatura na marcação do $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T

A tabela 7 e figura 28 apresentam os resultados do estudo de avaliação da **influência da temperatura** na porcentagem de pureza radioquímica (%PR) da marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, avaliada por CCD-SG, imediatamente após a marcação e após 24 e 48 horas, mediante armazenamento sob congelamento ( $\leq -20\text{ }^\circ\text{C}$ ).

**Tabela 7 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR) do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CCD-SG (TLC-SG): avaliação da influência da temperatura de marcação**

Parâmetro Temperatura ( $^\circ\text{C}$ )	Porcentagem de Pureza Radioquímica (%PR) em CCD-SG			Número de marcações
	imediatamente	24h	48h	
85	$98,7 \pm 1,5$	$98,9 \pm 1,2$	$98,8 \pm 1,1$	3
87	$99,8 \pm 0,0$	$99,5 \pm 0,2$	$99,3 \pm 0,4$	3
90	$99,8 \pm 0,1$	$99,7 \pm 0,1$	$99,8 \pm 0,1$	6
95	$99,8 \pm 0,0$	$99,8 \pm 0,0$	$99,1 \pm 0,6$	3

**Figura 28 - Gráfico Porcentagem de lutécio-177 livre nas preparações de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T em CCD-SG: avaliação da influência da temperatura de marcação**

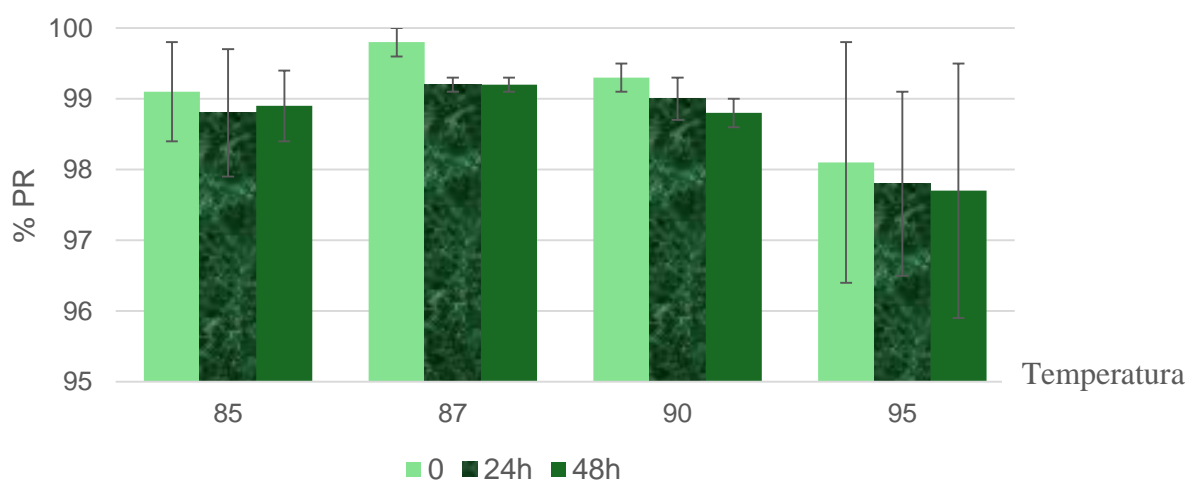


A tabela 8 e figura 29 apresentam os resultados do estudo de avaliação da **influência da temperatura** na porcentagem de pureza radioquímica (%PR) da marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, avaliada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) imediatamente após a marcação e após 24 e 48 horas, mediante armazenamento sob congelamento. As análises em CLAE foram realizadas para as mesmas amostras analisadas em CCD-SG. As porcentagens são correspondentes ao pico principal do espectro de CLAE ( $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T).

**Tabela 8 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência da temperatura de marcação**

Parâmetro Temperatura (°C)	Porcentagem de Pureza Radioquímica (%PR) em CLAE			Número de marcações
	imediatO	24h	48h	
85	99,1 ± 0,7	98,8 ± 0,9	98,9 ± 0,5	3
87	99,8 ± 0,2	99,2 ± 0,1	99,2 ± 0,1	3
90	99,3 ± 0,2	99,0 ± 0,3	98,8 ± 0,2	6
95	98,1 ± 1,7	97,8 ± 1,3	97,7 ± 1,8	3

**Figura 29 - Gráfico de Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE: avaliação da influência da temperatura de marcação**



Condições empregadas no CLAE: CLAE (Shimadzu, USA), Coluna RP18, 5 $\mu\text{m}$  4,6x150mm, 24°C, gradiente 0-8 min 24% B; 9-18 min 60% B; fluxo 0,6 mL/min, A= H<sub>2</sub>O/0,1%TFA, B=ACN/0,1%TFA; volume injetado 100  $\mu\text{L}$ .

As figuras 30, 31, 32 e 33 apresentam espectros de CLAE representativos da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T nas temperaturas de 85, 87, 90 e 95 °C, respectivamente, imediatamente após a marcação e após 24 e 48 horas, mediante armazenamento sob congelamento ( $\leq -20$  °C).

Figura 30 - Espectros de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T na temperatura de 85°C: Imediato; 24 horas; 48 horas

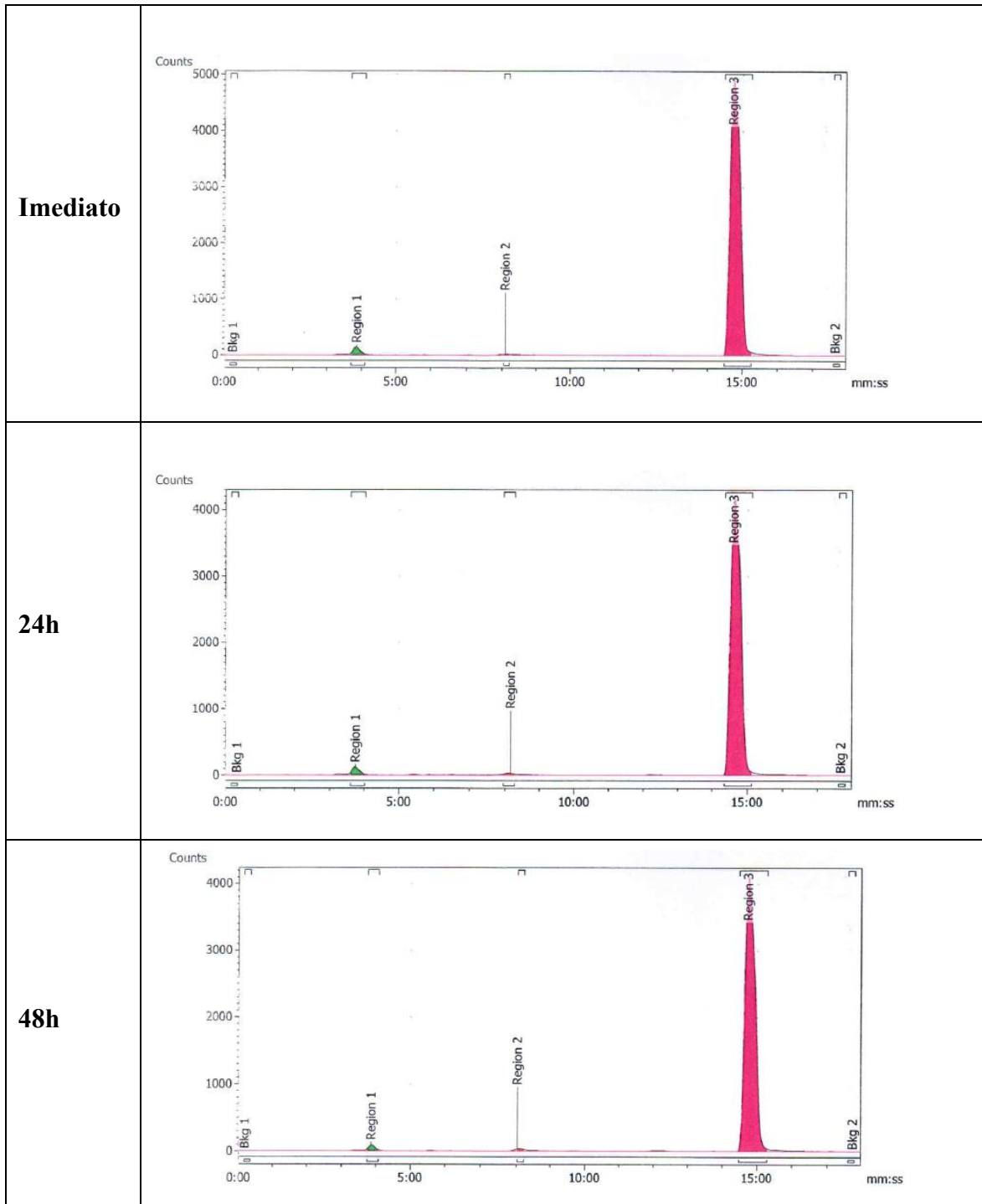


Figura 31 - Espectros de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T na temperatura de  $87^\circ\text{C}$ :  
Imediato; 24 horas; 48 horas

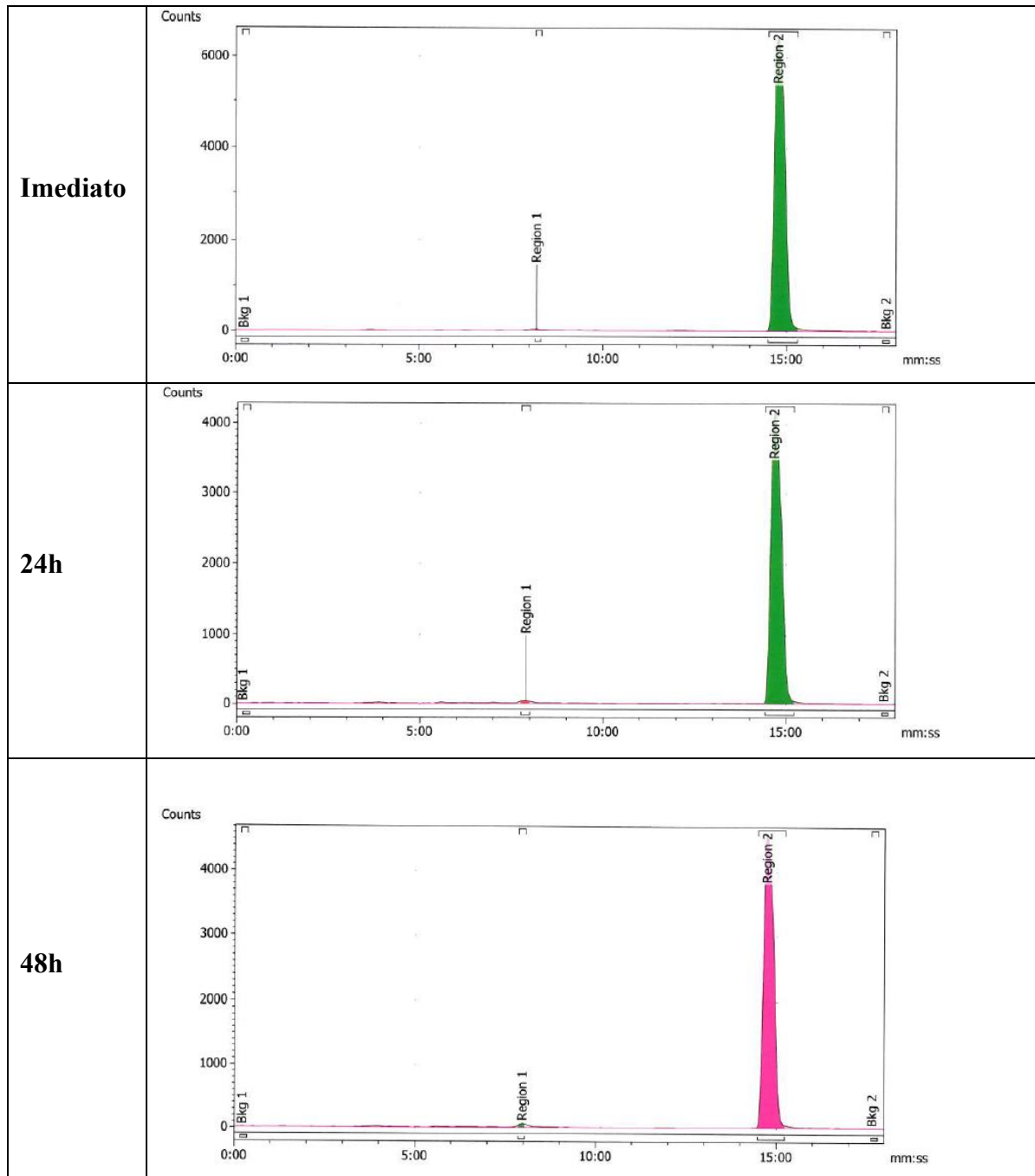


Figura 32 - Espectros de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T na temperatura de  $90^\circ\text{C}$ :  
Imediato; 24 horas; 48 horas

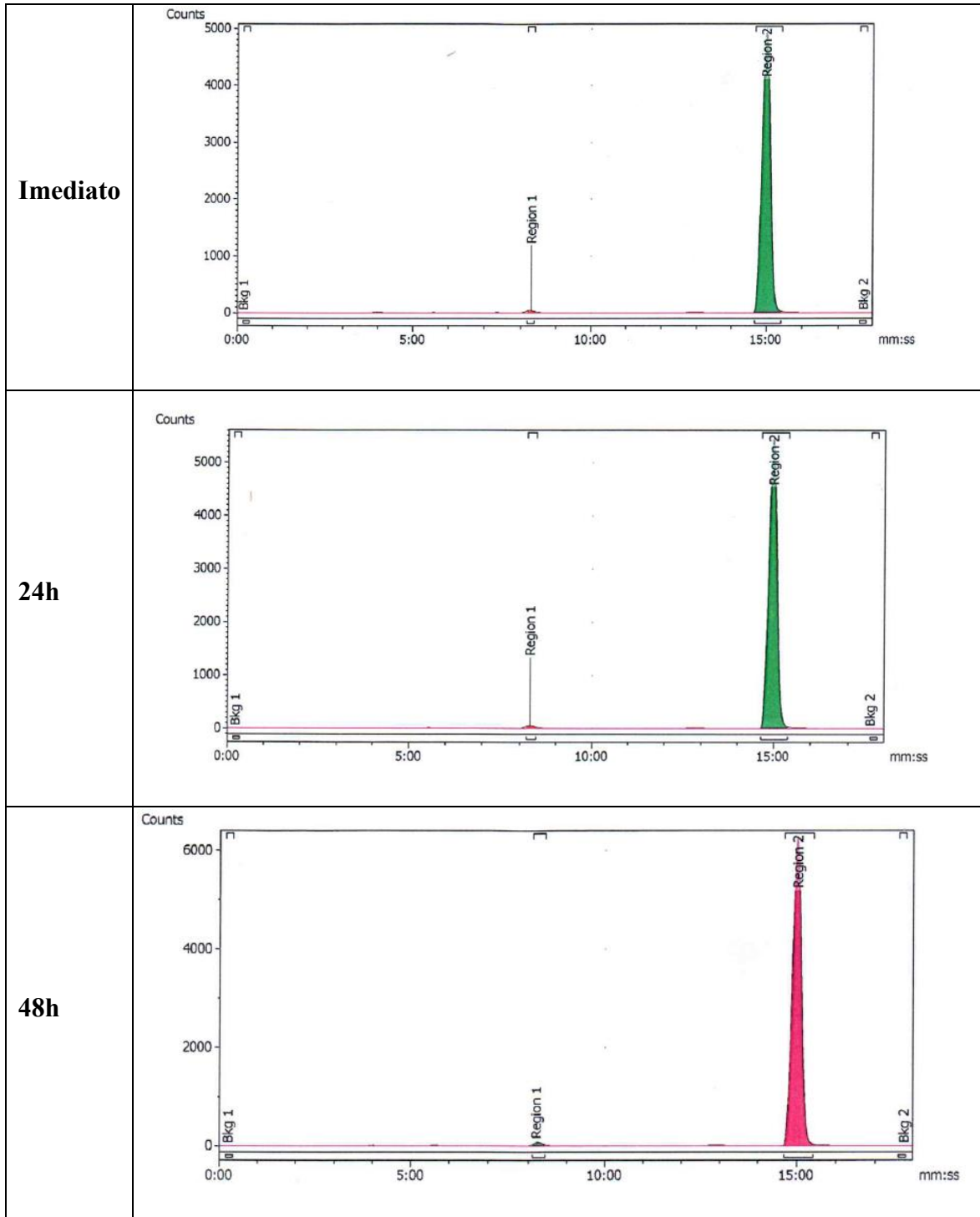
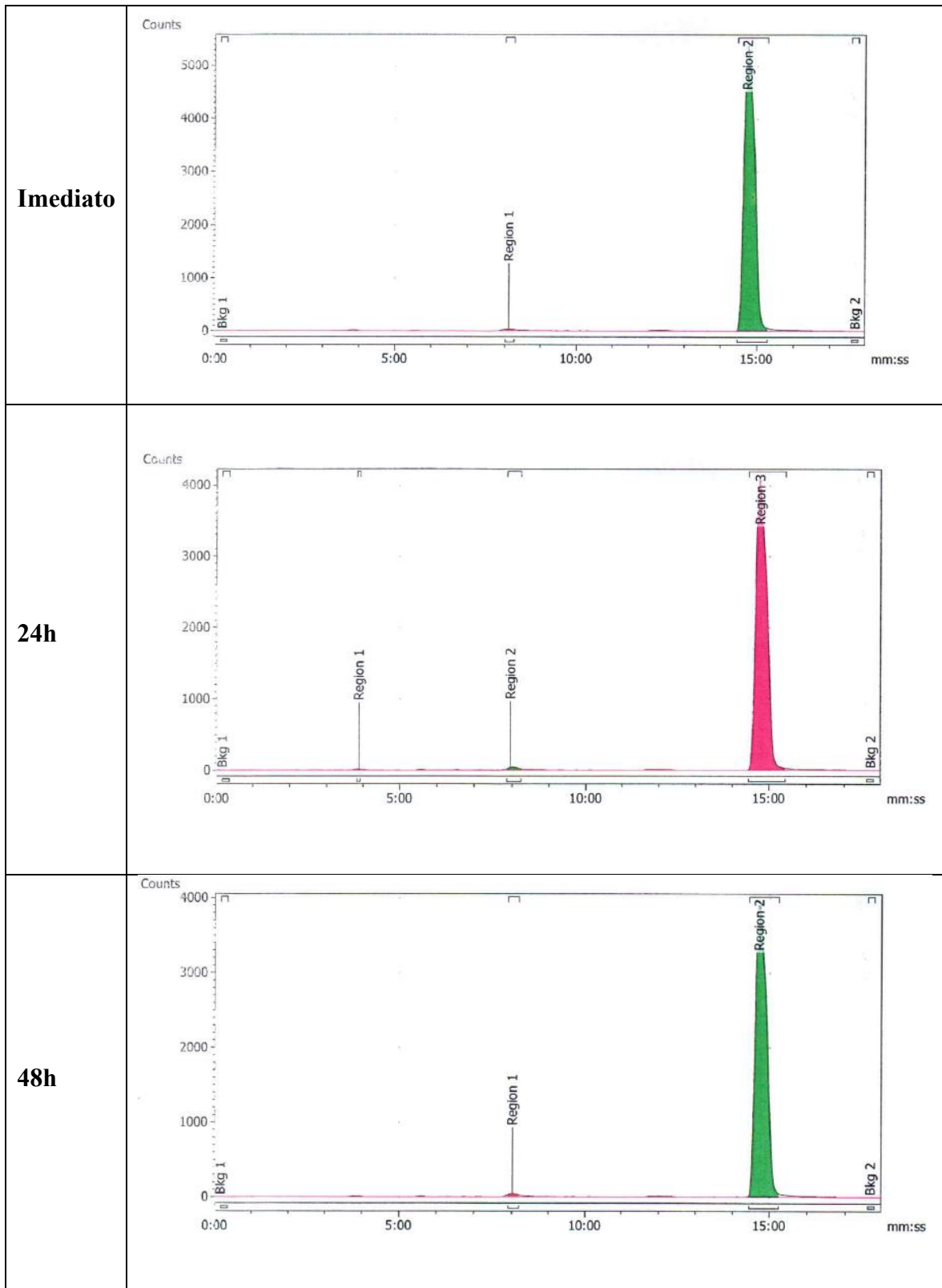


Figura 33 - Espectros de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T na temperatura de  $95^\circ\text{C}$ : Imediato; 24 horas; 48 horas



A influência da temperatura na %PR da marcação foi avaliada para as temperaturas de 85°C, 90°C e 95°C e a análise por ANOVA demonstrou que não há diferença significativa entre as médias, apresentando respectivamente resultados de  $P=0,3767$  e  $P=0,3719$  para o tempo imediato e 48h após a marcação.

Para esse parâmetro, a análise de Tukey demonstra que não há variação significativa entre as médias das %PR nas condições estudadas, apresentando para os tempos imediato e 48h respectivamente  $P= 0,9466$  e  $0,9840$  para temperatura de 85 °C e 90 °C;  $P= 0,5981$  e  $P= 0,4272$  para temperatura de 85 °C e 95 °C e  $P= 0,3510$  e  $P=0,4119$  para temperatura de 90 °C e 95 °C.

Apesar da análise estatística demonstrar não haver diferença significativa entre as médias de %PR para as diferentes temperaturas estudadas, observou-se na análise por CLAE para a temperatura de 95 °C, desvios padrão maiores que os observados para outras temperaturas. Sendo assim, no estabelecimento de um intervalo confiável de temperatura, os limites de 85 °C e 90 °C deverão ser observados.

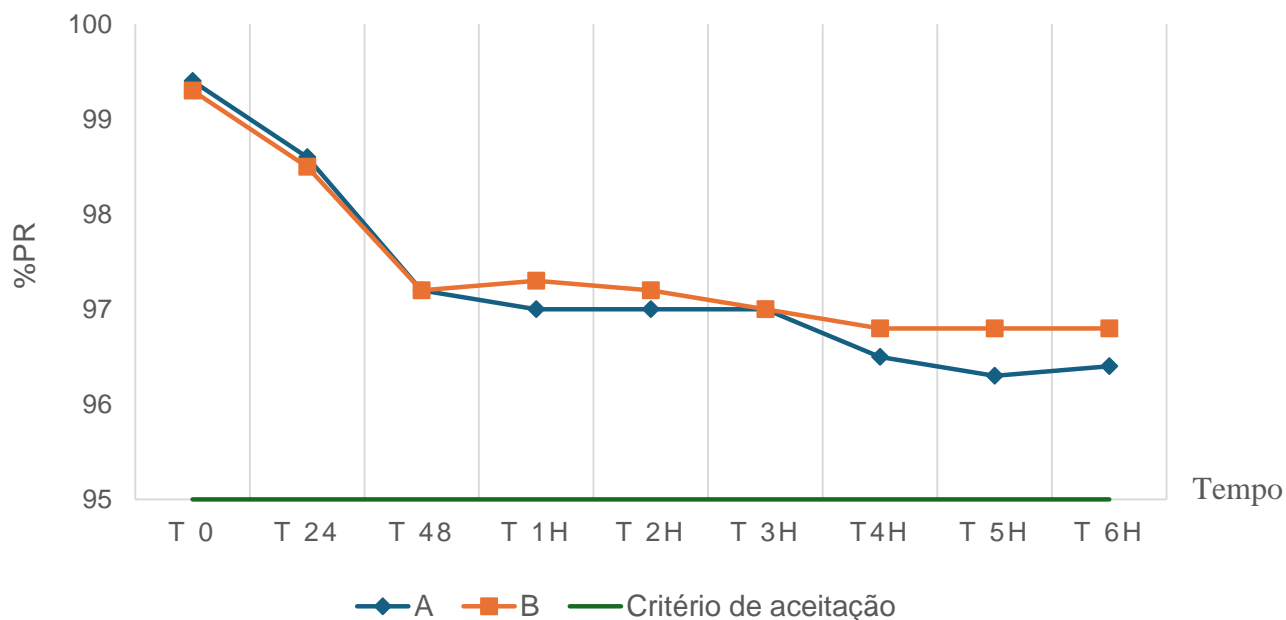
## **7.5 Marcação de dose terapêutica empregando condições otimizadas e avaliação da estabilidade**

Os resultados dos dois estudos de marcação empregando  $^{177}\text{Lu}$  com carregador, proveniente de dois fornecedores diferentes, e com atividade de marcação compatível com a preparação de uma dose terapêutica do radiofármaco na data de calibração (48 horas após a marcação) estão representados na tabela 9 e figura 34. Os dados representam a %PR das preparações, mantidas sob congelamento ( $\leq -20$  °C) até 48 horas, quando foram descongeladas e mantidas em câmara climática em condições de temperatura e umidade controladas (30°C e 35% de umidade) por seis horas.

**Tabela 9 - Resultados de Porcentagem de pureza radioquímica (%PR – pico principal) do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T avaliada por CLAE (% pico principal) e por CCD-SG (% de  $^{177}\text{Lu}$  livre): estudo de estabilidade**

<i>Fornecedor de Lu-177</i>	Método	PORCENTAGEM DE PUREZA RADIOQUÍMICA (%PR) PARA O CLAE E PORCENTAGEM DE IMPUREZA $^{177}\text{Lu}$ LIVRE PARA CCD-SG								
		Congelado			Câmara climática					
		T 0	T 24	T 48	T 1h	T 2h	T 3h	T 4h	T 5h	T 6h
<b>A</b>	CCD-SG	0,7	0,4	0,6	1,1	1	1,3	1,2	1,2	1,2
	CLAE	99,4	98,6	97,2	97	97	97	96,5	96,3	96,4
<b>B</b>	CCD-SG	0,3	0,4	0,6	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	0,9
	CLAE	99,3	98,5	97,2	97,3	97,2	97	96,8	96,8	96,8

**Figura 34 - Gráfico Evolução da %PR em CLAE (% pico principal) – estudo de estabilidade das doses terapêuticas para dois *Fornecedores de Lu-177* (A e B)**



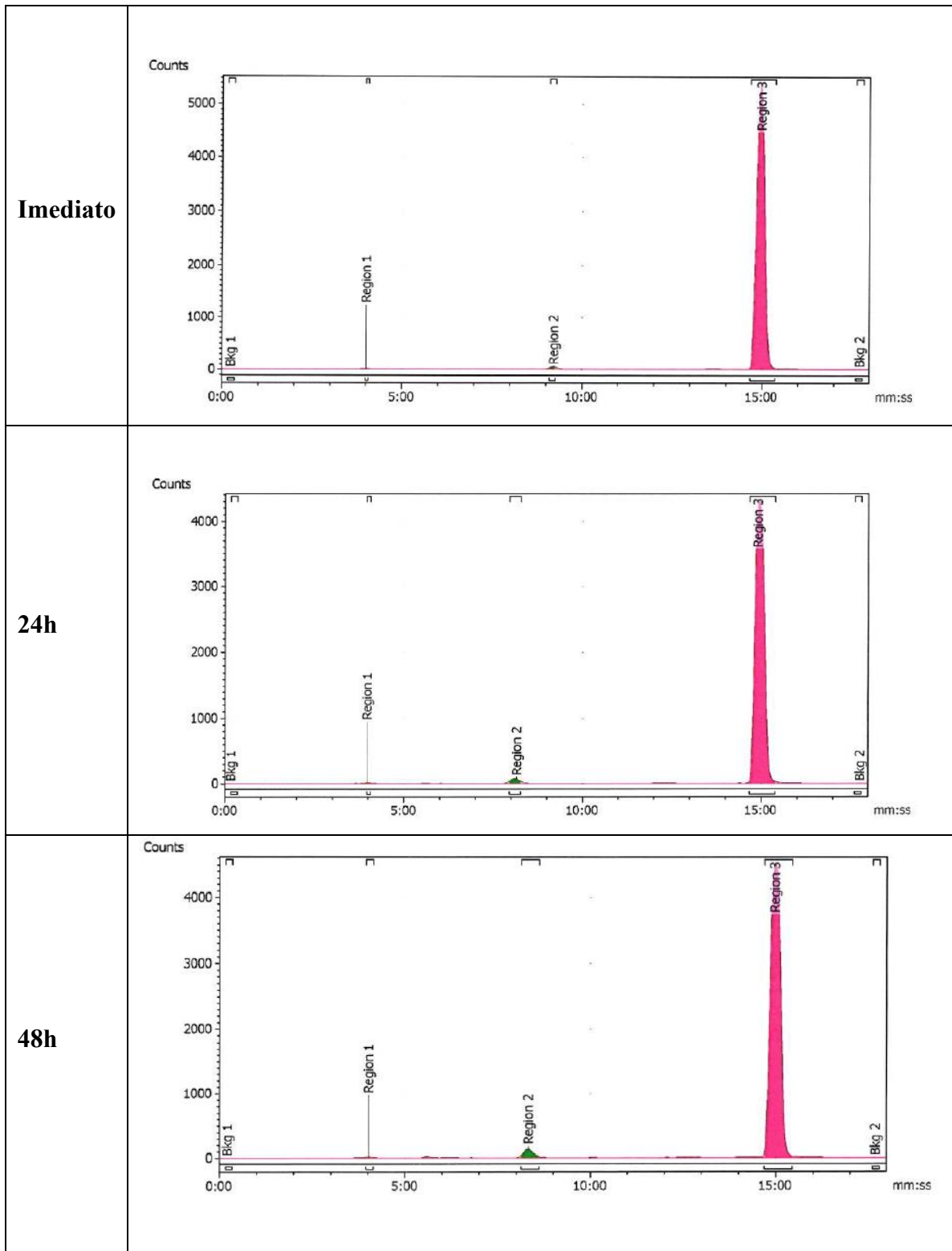
As doses terapêuticas preparadas com a condição de marcação otimizada apresentaram alta pureza radioquímica, atendendo ao critério de aceitação ( $\geq 95\%$  da atividade correspondente ao pico

principal no CLAE e  $\leq 3\%$  da atividade total correspondente a  $^{177}\text{Lu}$  livre na análise em CCD-SG), quando armazenadas na forma congelada, simulando a condição que será empregada para transporte do produto. A estabilidade foi mantida após o descongelamento, por um período de até 6 horas de avaliação, nas condições de temperatura e umidade estudadas. Este resultado de estabilidade após o descongelamento é importante pois assegura a qualidade do produto após o descongelamento, mantido em temperatura ambiente, por um longo período do tempo, facilitando o estabelecimento do protocolo de administração de doses aos pacientes.

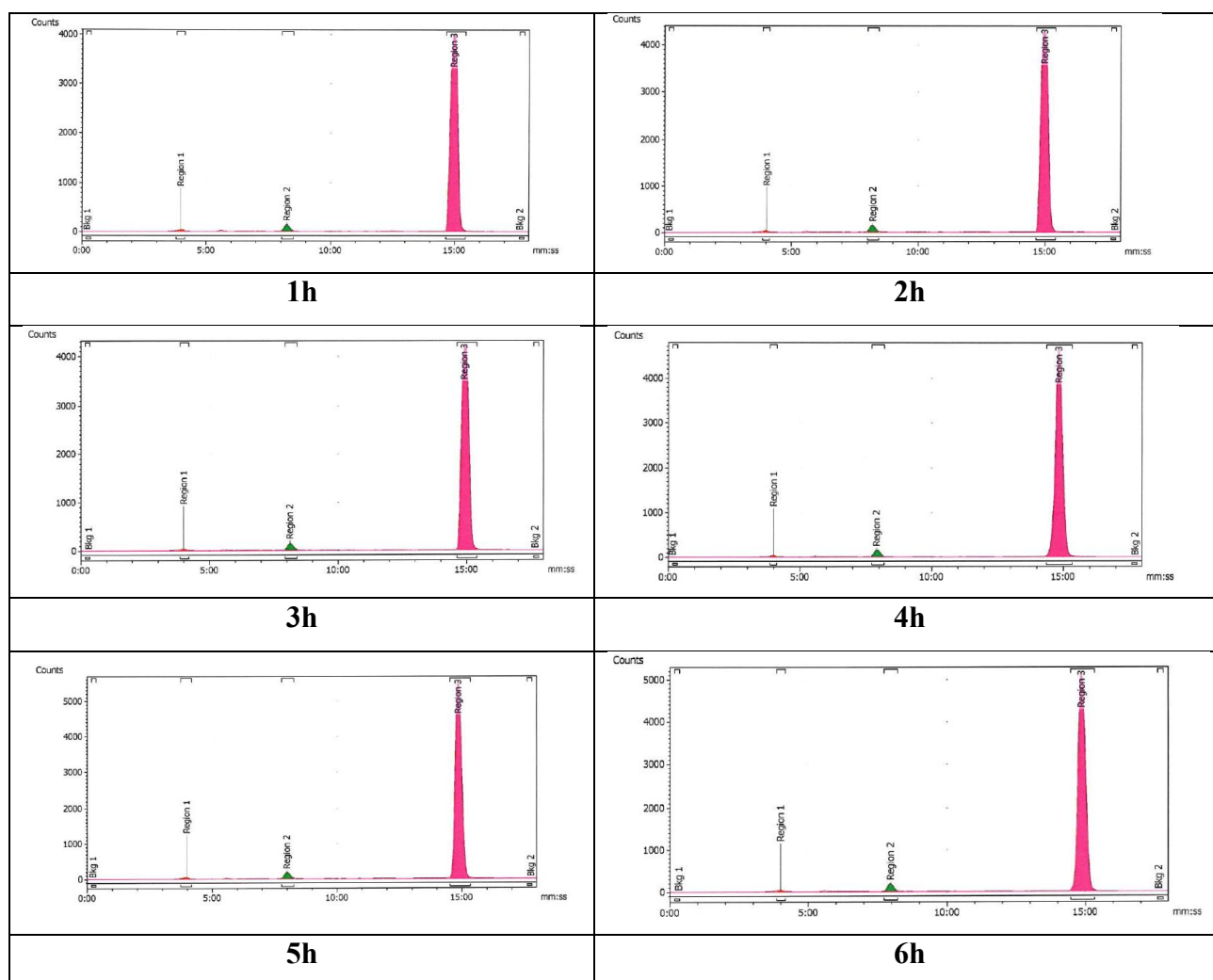
Como a atividade específica do lutécio-177 variou entre os fornecedores (*A* e *B*), as doses terapêuticas preparadas apresentaram atividade específica final de 21,46 GBq/mg (0,58 Ci/mg) para o *Fornecedor A* e 30,7 GBq/mg (0,83 Ci/mg) para o *Fornecedor B*. Apesar da diferença na atividade específica das preparações, ambas apresentaram estabilidade dentro dos critérios de aceitação de pureza radioquímica.

As figuras 35 e 36 representam os perfis de CLAE de um dos estudos de estabilidade de dose terapêutica, respectivamente, para os tempos de 24 e 48h (sob congelamento) e 1 a 6 horas (temperatura ambiente em câmara climática), nos quais podem ser observados picos com  $R_t$  de 4 e 8 minutos, em pequena porcentagem, que aumentam em função do tempo de armazenamento, provavelmente relacionados à produtos de degradação do radiofármaco, porém, sem comprometer o atendimento ao critério de aceitação para o pico principal ( $\geq 95\%$ ).

Figura 35 - Espectros de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T - dose terapêutica: Imediato; 24 horas; 48 horas (armazenado congelado  $\leq -20\text{ }^\circ\text{C}$ )



**Figura 36 - Espectros de CLAE da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T - dose terapêutica: 1 a 6 horas após descongelamento (armazenado em câmara climática a 30 °C e 35 % de umidade)**



## 7.6 Discussão

Di Iorio e col.<sup>90</sup> realizaram estudo de marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, para produção de doses terapêuticas, porém, empregaram o radioisótopo obtido pela rota indireta, com alta atividade específica ( $\geq 3000$  GBq/mg). Foram empregadas atividades de ( $^{177}\text{Lu}$ )  $\text{LuCl}_3$  da ordem de 18.350 a 31.040 MBq (496 a 839 mCi) e massa do precursor PSMA-I&T de 500–800  $\mu\text{g}$  (334–534 nmol), ajustada para obter-se atividade específica de 36 a 39 GBq/mg (0,97 a 1,05 Ci/mg). Os autores utilizaram tampão acetato de sódio e o pH de marcação não foi informado. No meio de marcação também foram adicionados ácido gntísico e ácido ascórbico como estabilizantes (“radical scavengers”). A marcação ocorreu a 95°C por 30 minutos e a pureza radioquímica das marcações foi

elevada, atendendo ao critério de aceitação adotado ( $\geq 97\%$  de  $^{177}\text{Lu-PSMA-I\&T}$  e  $\leq 3\%$  de  $^{177}\text{Lu}$  coloidal, tanto para CCD-SG como para CLAE) <sup>90</sup>.

Os autores observaram, quanto à estabilidade, que a utilização de solução de cloreto de sódio 0,9% como diluente não garantiu o atingimento do critério de aceitação após 24h de armazenamento à temperatura ambiente, e propuseram a formulação final utilizando como diluente solução de ácido ascórbico 20 mg/mL em NaCl 0,9%, para garantir a estabilidade da preparação <sup>90</sup>.

Comparativamente, neste presente trabalho, a utilização de tampão ascorbato de sódio mostrou-se efetiva na prevenção da radiólise durante a marcação, bem como na manutenção da estabilidade do produto durante o armazenamento, não havendo necessidade de utilização de ácido gentísico durante a marcação. Na formulação final, o diluente empregado foi solução de cloreto de sódio 0,9%, e a preparação permaneceu estável durante o armazenamento sob congelamento por até 48 horas (considerado o pior caso de tempo de transporte para regiões mais distantes do Brasil) e manteve a estabilidade por até 6 horas após descongelamento, mesmo sendo armazenado sob condições de temperatura ambiente para zona tropical (30°C e 35% de umidade). Deste modo, a utilização de tampão ascorbato de sódio para marcação e de solução de cloreto de sódio 0,9% como diluente final do produto, foi considerada satisfatória para manutenção da estabilidade da dose terapêutica.

Outro fator importante de comparação é a atividade específica do radiofármaco. Empregando-se  $^{177}\text{Lu}$  de alta atividade específica, Di Iorio e col. <sup>90</sup> obtiveram o radiofármaco com atividade específica de 36 a 39 GBq/mg (0,97 a 1,05 Ci/mg), comparada com a atividade específica de 21,46 e 30,7 GBq/mg (0,58 e 0,83 Ci/mg) empregadas nas doses terapêuticas preparadas neste presente trabalho, em decorrência da utilização de  $^{177}\text{Lu}$  de atividade específica mais baixa, oriundo da rota de produção direta, a partir de Lu-176.

Weineisen, M. e col. <sup>91</sup> descreveram a marcação de  $^{177}\text{Lu-PSMA-I\&T}$  obtendo o radiofármaco com atividade específica de 40,0 GBq/mg (1,08 Ci/mg), por meio de reação de 150-200  $\mu\text{g}$  PSMA I&T com 6-8 GBq de  $^{177}\text{LuCl}_3$  (ITG, Garching, Germany) a 90 °C por 30 minutos, em tampão acetato de sódio (0,4 M, 800  $\mu\text{L}$ , pH 5,5). A este tampão foi adicionado 5-10 mg de ácido gentísico para prevenir radiólise. Foi utilizada solução salina para diluição. O artigo não informa a atividade específica do  $^{177}\text{Lu}$  utilizado e a atividade específica do radiofármaco foi apenas ligeiramente superior à obtida no presente trabalho.

Em se tratando de radiofármaco receptor-específico, é desejável obtê-lo com a maior atividade específica possível, pois assim será menor a quantidade de moléculas do precursor não radiomarcadas

a competir com as moléculas marcadas pelo receptor-alvo. Entretanto, é importante considerar a carência eventual de  $^{177}\text{Lu}$  de alta atividade específica no mercado internacional bem como o custo maior deste insumo, que podem impactar na disponibilidade e no custo final do radiofármaco. Nestes casos, a utilização do  $^{177}\text{Lu}$  de baixa atividade específica pode ser recomendada. Além disso, o impacto da atividade específica do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T sobre a captação tumoral do radiofármaco não foi efetivamente estudado do ponto de vista clínico.

Neste sentido, Villas Boas, C.A.W e col.<sup>97</sup>, estudaram a influência da atividade específica do  $^{177}\text{Lu}$  nas propriedades do radiofármaco  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 em estudos pré-clínicos. O estudo *in vitro* realizado com células de tumor de próstata LNCap (*Lympho Node Carcinome of the prostate*) determinou uma constante de dissociação menor para o radiofármaco produzido com  $^{177}\text{Lu}$  n.c.a. Contudo, os resultados dos ensaios de competição e de internalização *in vitro* foram semelhantes para o radiofármaco preparado com  $^{177}\text{Lu}$  c.a. e n.c.a. Com base neste estudo, os resultados de ligação total em células tumorais *in vitro* e de captação tumoral em estudos *in vivo*, realizados com camundongos SCID com modelo de tumor de células LNCap foram similares, não havendo influência da atividade específica do radiofármaco. Apesar da atividade específica do radiofármaco não ter influenciado na captação tumoral, a taxa tumor/órgão não alvo foi maior para o radiofármaco produzido com  $^{177}\text{Lu}$  c.a, ou seja, com menor atividade específica<sup>97</sup>.

A utilização de  $^{177}\text{Lu}$  de atividade específica moderada (0,74 GBq/mg), proveniente da rota de produção direta a partir de  $^{176}\text{Lu}$  na marcação do PSMA-617 foi descrita por Chakraborty, A. e col<sup>98</sup>, empregando razão molar de 2,5 em tampão acetato de amônio 0,1M pH 4,0-4,5, para realização de estudos pré-clínicos e clínicos, como alternativa para a rotina de preparação em radiofarmácia hospitalar. O alto grau de localização do radiofármaco em imagens SPECT pós-terapia e a resposta pós-terapia confirmaram a eficácia terapêutica do radiofármaco<sup>98</sup>.

A marcação de PSMA-I&T com  $^{177}\text{Lu}$  de baixa atividade específica “carrier-added” (IDB Holland B.V.) foi descrita por Yusufi, N. e col<sup>92</sup>, empregando 200 µg de PSMA I&T em 50% (v/v) EtOH/H<sub>2</sub>O e 10 GBq (270 mCi) de  $^{177}\text{LuCl}_3$  em NaOAc (0,04 M, pH 5,5) a 90 °C por 30 minutos, com subsequente adição de 4 mg de ácido gntísico para prevenir radiólise. O artigo informa pureza radioquímica elevada (99%–100%), especialmente se considerada a relação atividade/massa empregada, que resultou em atividade específica do radiofármaco de 50,0 GBq/mg (1,35 Ci/mg). Entretanto, vale ressaltar que a síntese foi realizada em módulo automatizado, que normalmente emprega etapa de purificação para remoção de  $^{177}\text{Lu}$  livre e o rendimento da síntese não foi informado<sup>92</sup>.

Comparativamente, a partir dos resultados obtidos neste presente trabalho com a marcação de PSMA-I&T empregando-se  $^{177}\text{Lu}$  c.a, a marcação de dose terapêutica, com cerca de 10 GBq requereu a utilização de massa maior do precursor PSMA-I&T, resultando em alta porcentagem de pureza radioquímica final, em procedimento de marcação manual, sem necessidade de purificação.

Kraihammer et al. <sup>93</sup> descreveram a síntese automatizada de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, empregando 130  $\mu\text{g}$  de PSMA-I&T em 50% água/etanol por paciente (concentração de 1 mg/mL) que reagiu com  $^{177}\text{LuCl}_3$  (80–100 GBq/ $\mu\text{mol}$  de PSMA-I&T) em tampão ascorbato (Polatom; 50 mg kit ASC-01 dissolvido em 1–2 mL de água para injeção, dependendo da atividade utilizada) a 90 °C por 16,7 minutos. O produto final foi diluído em 2 mL de solução salina fisiológica e purificado em coluna C18. O produto foi eluído com 2 mL de etanol 50% em água e diluído com 15 mL de NaCl 0,9%, filtrado em membrana 0,22  $\mu\text{m}$  para um frasco contendo DTPA (diluído a 3 mg/mL e adicionado em excesso molar de 20 vezes em relação ao PSMA-I&T) e ácido ascórbico (equivalente a 10 mg/GBq). O procedimento utilizou  $^{177}\text{LuCl}_3$  n.c.a. (EndolucinBeta®, ITM Medical Isotopes GmbH, Garching, Germany), resultando em radiofármaco de alta atividade específica, correspondente a 54 a 67 GBq/mg (1,45 a 1,8 Ci/mg). Neste procedimento, o tempo de reação chama atenção, uma vez que foi inferior ao tempo de 30 minutos, preconizado na maioria dos artigos consultados. Vale ressaltar que o procedimento foi realizado em módulo, com purificação final em cartucho C18 que pode remover eventual conteúdo de  $^{177}\text{Lu}$  livre remanescente, em detrimento da redução do tempo de reação. O rendimento da síntese não foi informado no artigo <sup>93</sup>.

No presente estudo, o menor tempo de reação estudado foi o de 20 minutos, que propiciou resultados de %PR dentro da especificação, porém, apresentando porcentagem de  $^{177}\text{Lu}$  livre em CCD-SG maior que as obtidas para os tempos  $\geq 30$  minutos. Como o processo de produção, neste caso, é manual, optou-se por um tempo maior de reação, garantindo o atingimento da especificação sem etapa de purificação adicional, que seria dificultada no processo manual.

Cankaya e col. <sup>94</sup> descreveram a síntese automatizada de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, com atividades de partida variando de 6130 MBq (165 mCi) a 25890 MBq (700 mCi), objetivando produzir até 3 doses terapêuticas por lote. Para estes extremos de atividade, a quantidade de precursor PSMA-I&T empregada foi de 16,3 e 11,6  $\mu\text{g}/\text{GBq}$ , respectivamente, que correspondem à atividade específica final de 61 GBq/mg (1,65 Ci/mg) e 86 GBq/mg (2,32 Ci/mg), respectivamente. A marcação foi realizada em tampão de ácido ascórbico, a 90 °C por 20 minutos. Ao final da síntese, o produto foi purificado em cartucho C18, diluído com solução de NaCl 0,9% e esterilizado por membrana filtrante.

Os autores otimizaram o procedimento de purificação para obter rendimentos elevados e alta pureza radioquímica ( $\geq 99\%$ )<sup>94</sup>.

As condições de marcação empregadas por Cankaya e col.<sup>94</sup> são semelhantes às empregadas no presente estudo, sendo o tampão de marcação utilizado à base de ácido ascórbico, sem adição de estabilizantes adicionais. Além disso, os autores utilizaram tempo de 20 minutos e temperatura de 90 °C, para os quais o presente estudo também mostrou resultados satisfatórios.

Vyas, M. e col.<sup>95</sup> descreveram a marcação de PSMA-I&T (200  $\mu\text{g}/5 \text{ GBq}$  de  $^{177}\text{LuCl}_3$  n.c.a.) reconstituído com 1,5 mL de ascorbato de sódio (0,57 M) pH  $4,5 \pm 0,1$ . A marcação foi realizada em módulo de síntese automatizado (Modular-Lab Eazy; Eckert & Ziegler) e o prazo de validade do PSMA I&T- $^{177}\text{Lu}$  foi determinado com base na avaliação da pureza radioquímica por CLAE e ITLC-SG, desenvolvida em acetato de amônia 10 % e metanol como fase móvel (30:70 vol/vol). Foram produzidos e analisados 35 lotes de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, para os quais a porcentagem média de pureza radioquímica determinada por ITLC-SG foi maior que 99 % e por CLAE foi maior que 98 %, para 24 e 48 horas após a síntese, em temperatura ambiente<sup>95</sup>.

No presente estudo, optou-se por avaliar a estabilidade por período inicial de 48h, porém, sob congelamento, uma vez que esta condição será utilizada para o transporte do radiofármaco para as diferentes regiões do país. A estabilidade foi acompanhada após o descongelamento por um período de 6 horas em temperatura ambiente (zona tropical), considerando este intervalo de tempo suficiente para a rotina clínica de administração do radiofármaco após descongelamento.

Variações no procedimento de radiomarkação do PSMA-I&T com  $^{177}\text{Lu}$  foram descritas, como a marcação empregando tampão MES 0,5M pH 5,5 por 20 min a 95 °C e, ao final da marcação, adicionando EDTA na concentração de 5 mM para complexar  $^{177}\text{Lu}$  livre, sendo a preparação empregada em estudos pré-clínicos para demonstrar o potencial do radiofármaco<sup>96</sup>.

No presente estudo, foi utilizada solução de DTPA para complexar  $^{177}\text{Lu}$  livre, sendo este quelante empregado por outros autores e também já experimentado pelo IPEN na produção do radiofármaco DOT-IPEN-177 ( $^{177}\text{Lu}$ -DOTATATO). Uma vez quelado ao DTPA, o lutécio-177 apresenta rápida depuração renal após administração, evitando o acúmulo do radionuclídeo livre na medula óssea.

Os diversos artigos pesquisados e apresentados descrevem a marcação do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T sob condições de radiomarkação relativamente semelhantes. Entretanto, não objetivaram estudar os parâmetros de radiomarkação, de modo a estabelecer critérios de intervalos para os mesmos, facilitando o estabelecimento do espaço de trabalho (“design space”) no desenvolvimento do processo

de radiomarcção. Neste sentido, o presente trabalho oferece resultados importantes para a padronização do procedimento de radiomarcção do precursor  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T c.a.

**Tabela 10 - Síntese dos resultados de outros autores X resultados do presente trabalho**

Parâmetros	Presente trabalho	Di Iorio e col. (2022)	Kraihammer et al. (2023)	Cankaya e col. (2023)	Weineisen (2015)	Vyas, M. e col. (2022)
Atividade específica do $^{177}\text{Lu}$	> 740 GBq/mg	$\geq 3000$ GBq/mg	Não informado	Não informado	40,0 GBq/mg (1,08 Ci/mg)	Não informado
Atividade da marcação	9.250 MBq (250 mCi)	18.350 a 31.040 MBq (496 a 839 mCi)	Não informado	6130 MBq (165 mCi) a 25890 MBq (700 mCi)	Não informado	Não informado
Massa de PSMA-I&T	293 a 444 $\mu\text{g}$	500 a 800 $\mu\text{g}$	130 $\mu\text{g}$ de PSMA-I&T	16,3 e 11,6 $\mu\text{g}/\text{GBq}$	150-200 $\mu\text{g}$ PSMA I&T com 6-8 GBq de $^{177}\text{LuCl}_3$	200 $\mu\text{g}/5$ GBq de $^{177}\text{LuCl}_3$
Atividade específica do radiofármaco	Fornecedor A: 21,46 GBq/mg (0,58 Ci/mg) Fornecedor B: 30,7 GBq/mg (0,83 Ci/mg)	36 a 39 GBq/mg (0,97 a 1,05 Ci/mg)	54 a 67 GBq/mg (1,45 a 1,8 Ci/mg)	61 GBq/mg (1,65 Ci/mg) e 86 GBq/mg (2,32 Ci/mg)	40,0 GBq/mg (1,08 Ci/mg), 150-200 $\mu\text{g}$ PSMA I&T com 6-8 GBq de $^{177}\text{LuCl}_3$	Não informado
Tampão de marcação	Tampão Ascorbato de sódio	Tampão Acetato de sódio	Tampão ascorbato	Tampão ácido ascórbico	Tampão Acetato de sódio	Tampão Ascorbato de sódio
Estabilizantes	ácido Ascórbico	Ácido gentísico + ácido ascórbico	ácido ascórbico	ácido ascórbico	Acetato de sódio + ácido gentísico	Não informado
Temperatura/ tempo de marcação	90°C/30 minutos	95°C/30 minutos	90 °C por 16,7 minutos	20 minutos e temperatura de 90 °C	90°C/30 minutos	temperatura ambiente/24 e 48 horas após a síntese
Critério adotado	$\geq 95$ % PSMA-I&T CLAE e $\leq 3$ % $^{177}\text{Lu}$ livre em CCD-SG	$\geq 97$ % PSMA-I&T CLAE e $\leq 3$ % $^{177}\text{Lu}$ livre em CCD-SG	Não informado	$\geq 99$ % $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T	Não informado	ITLC-SG > 99 % e por CLAE > 98 %

Fonte: Autor da dissertação

Conclui-se que as condições estabelecidas neste trabalho promoveram resultados semelhantes aos da literatura em termos de % de pureza radioquímica e estabilidade da preparação.

## 8. CONCLUSÃO

A principal contribuição deste trabalho foi avaliar os parâmetros de marcação do radiofármaco  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, de modo a estabelecer critérios de intervalos para os mesmos, facilitando o estabelecimento do espaço de trabalho (“design space”) no desenvolvimento do processo de radiomarkação.

A partir dos experimentos realizados para determinar os melhores parâmetros de marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T c.a, dentro de intervalos pré estabelecidos, estabeleceu-se a condição de marcação ideal, a saber:

- Razão molar peptídeo:lutécio: 4,0 (intervalo de 3,5 a 4,0)
- Temperatura de marcação: 90 °C (intervalo 85 a 95 °C)
- Tempo de marcação: 30 (intervalo 20 a 40 minutos)
- pH do tampão de marcação: 4,7 (intervalo 4,4 a 5,0).

Os estudos desenvolvidos neste trabalho possibilitaram a obtenção de dose terapêutica do radiofármaco  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T com atividade específica moderada (21,46 e 30,7 GBq/mg), com pureza radioquímica e estabilidade, atendendo ao critério de especificação estabelecido ( $\geq 95\%$  do pico principal de CLAE e  $\leq 3\%$  de  $^{177}\text{Lu}$  livre em CCD-SG), em marcações não automatizadas, sem purificação final.

Os métodos analíticos empregados na determinação da pureza radioquímica das marcações mostraram-se adequados para avaliação dentro dos critérios de aceitação empregados, ressaltando-se a importância da utilização de métodos analíticos complementares, de modo a determinar tanto a porcentagem da principal impureza ( $^{177}\text{Lu}$  livre) por CCD como a porcentagem da pureza ( $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T), correspondente ao pico principal do CLAE.

O estudo do  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T estabeleceu parâmetros de marcação contribuindo para a definição das condições favoráveis em uma rotina de produção do radiofármaco  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T e criando critérios para a validação do processo produtivo em escala industrial.

Estudos futuros deverão considerar a variação concomitante de mais de um parâmetro de reação, em análise multivariada, para melhor definição do espaço de trabalho da marcação de  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T, minimizando a ocorrência de desvios de processo, que poderiam ser ocasionados por pequenas variações nos parâmetros de marcação.

## 9. REFERÊNCIAS

- 1- INCA. **INCA estima 704 mil casos de câncer por ano no Brasil até 2025**. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2022/inca-estima-704-mil-casos-de-cancer-por-ano-no-brasil-ate-2025>. Acesso em: 10 jan. 2025
- 2- RISTAU, B. T.; O'KEEFE, D. S.; BACICH, D. J. **The prostate-specific membrane antigen: Lessons and current clinical implications from 20 years of research**. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, v. 32, n. 3, p. 272– 279, abr. 3- 2014. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1078143913003463>. ZIESSMAN, Harvey A.; O'MALLEY, Janis P.; THRALL, James H. 4 ed. **Medicina nuclear**. Elsevier Brasil, 2014.
- 4- CHANG, S. S. **Overview of prostate-specific membrane antigen**. *Reviews in urology*, v. 6, n. Suppl 10, p. S13-S18, 2004.
- 5- KRATOCHWIL, C.; HABERKORN, U.; GIESEL, F. L. **<sup>225</sup>Ac-PSMA-617 for therapy of prostate cancer**. In: *Seminars in nuclear medicine*. WB Saunders, 2020. p. 133-140.
- 6- AFSHAR-OROMIEH, A.; HOLLAND-LETZ, T.; GIESEL, F. L.; KRATOCHWIL, C.; MIER, W.; HAUFE, S.; DEBUS, N.; EDER, M.; EISENHUT, M.; SCHÄFER, M.; NEELS, O.; HOHENFELLNER, M.; KOPKA, K.; KAUCZOR, H. U.; DEBUS, J.; HABERKORN, U. **Diagnostic performance of <sup>68</sup>Ga-PSMA-11 (HBED-CC) PET/CT in patients with recurrent prostate cancer: evaluation in 1007 patients**. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, v. 44, n. 8, p. 1258–1268, 2017.
- 7- WEINEISEN, M.; SCHOTTELIUS, M.; SIMECEK, J.; BAUM, R. P.; YILDIZ, A.; BEYKAN, S.; KULKARNI, H. R.; LASSMANN, M.; KLETTE, I.; EIBER, M.; SCHWAIGER, M.; WESTER, H.-J. **<sup>68</sup>Ga- and <sup>177</sup>Lu-Labeled PSMA I& amp; T: Optimization of a PSMA-Targeted Theranostic Concept and First Proof-of-Concept Human Studies**. *Journal of Nuclear Medicine*, v. 56, n. 8, p. 1169–1176, 1 ago. 2015. Disponível em: <http://jnm.snmjournals.org/cgi/doi/10.2967/jnumed.115.158550>.
- 8- SATHEKGE, M.; BRUCHERTSEIFER, F.; KNOESEN, O.; REYNEKE, F.; LAWAL, I.; LENGANA, T.; DAVIS, C.; MAHAPANE, J.; CORBETT, C.; VORSTER, M.; MORGENSTERN, A. **<sup>225</sup>Ac-PSMA-617 in chemotherapy-naive patients with advanced prostate cancer: a pilot study**. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, v. 46, n. 1, p. 129–138, 19 jan. 2019. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00259-018-4167-0>.
- 9- AHMADZADEHFAR, H.; WEGEN, S.; YORDANOVA, A.; FIMMERS, R.; KÜRPIG, S.; EPPARD, E.; WEI, X.; SCHLENKHOF, C.; HAUSER, S.; ESSLER, M. **Overall survival and response pattern of castration-resistant metastatic prostate cancer to multiple cycles of radioligand therapy using [<sup>177</sup>Lu]Lu-PSMA-617**. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, v. 44, n. 9, p. 1448–1454, 9 ago. 2017. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00259-017-3716-2>.
- 10- EVANS, J. C.; MALHOTRA, M.; CRYAN, J. F.; O'DRISCOLL, C. M. **The therapeutic and diagnostic potential of the prostate specific membrane antigen/glutamate carboxypeptidase II (PSMA/GCPII) in cancer and neurological disease**. *British Journal of Pharmacology*, v. 173, n. 21, p. 3041–3079, nov. 2016. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/bph.13576>.
- 11- HAUG, A. R.; ROMINGER, A.; MUSTAFA, M.; AUERNHAMMER, C.; GOKE, B.;

- SCHMIDT, G. P.; WANGLER, B.; CUMMING, P.; BARTENSTEIN, P.; HACKER, M. **Treatment with Octreotide Does Not Reduce Tumor Uptake of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE as Measured by PET/CT in Patients with Neuroendocrine Tumors.** *Journal of Nuclear Medicine*, v. 52, n. 11, p. 1679–1683, 1 nov. 2011. Disponível em: <http://jnm.snmjournals.org/cgi/doi/10.2967/jnumed.111.089276>.
- 12- TERINI, R. A. **A História da Física Médica na formação do Físico Médico.** *Revista Brasileira de Física Médica*, v. 12, n. 3, p. 2-6, 2018.
- 13- MCGOWAN, D. R.; GUY, M. J. **Time to demand dosimetry for molecular radiotherapy.** *The British journal of radiology*, v. 88, n. 1047, p. 20140720, 2015.
- 14- ZIESSMAN, Harvey A.; O'MALLEY, Janis P.; THRALL, James H. 4 ed. **Medicina nuclear.** Elsevier Brasil, 2014.
- 15- Alberto A. Antunes, Sabrina T. Reis, Kátia R. Leite, Danilo M. Real, Juliana M. Sousa-Canavez, Luiz H. Camara-Lopes, Marcos F. Dall'Oglio and Miguel Srougi. **Laboratory of Medicine Investigation, Division of Urology**, University of Sao Paulo Medical School (AAA, STR, KRL, DMR, MFD, MS) and Genoa Biotechnology SA (KRL, JMS, LHC), São Paulo, Brazil; Vol. 39 (5): 649-656, September - October, 2013. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2013.05.06
- 16- CONSELHO REGIONAL DE FARMÁCIA DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Radiofarmácia.** Disponível em: <https://www.crfsp.org.br/images/cartilhas/radiofarmacia.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2024.
- 17- AUTIO, A. et al. **Absorption, distribution and excretion of intravenously injected  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator eluate in healthy rats, and estimation of human radiation dosimetry.** *EJNMMI research*, v. 5, n. 40, 2015.
- 18- THIELE, N. A.; WILSON, J. J. **Actinium-225 for targeted  $\alpha$  therapy: Coordination chemistry and current chelation approaches.** *Cancer biotherapy & radiopharmaceuticals*, v. 33, n. 8, p. 336-348, 2018.
- 19- ACKERMAN, N. L.; GRAVES, E. E. **The potential for Cerenkov luminescence imaging of alpha-emitting radionuclides.** *Physics in Medicine & Biology*, v. 57, n. 3, 2012.
- 20- ZIESSMAN, Harvey A.; O'MALLEY, Janis P.; THRALL, James H. 4 ed. **Medicina nuclear.** Elsevier Brasil, 2014.
- 21- EMMETT, L. et al. **Lutetium 177 PSMA radionuclide therapy for men with prostate cancer: a review of the current literature and discussion of practical aspects of therapy.** *Journal of medical radiation sciences*, v. 64, n. 1, p. 52-60, 2017.
- 22- COSTA, A.M. **Métodos de Calibração e de Intercomparação de Calibradores de Dose Utilizados em Serviços de Medicina Nuclear.** 1999. (Dissertação) Mestrado. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- 23- KOTZ, C. J.; TREICHEL Jr, P. M. **Química Geral e Reações.** São Paulo, SP. Thomson, 2005.
- 24 - SUDHAKAR, A. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. **Journal of Cancer Science & Therapy**, v. 01, n. 02, p. i-iv, 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2927383/pdf/nihms226784.pdf>.
- 25- GUYTON, Arthur C. **Tratado de fisiologia médica.** 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
- 26- KOCH, H. A. **Radiologia na formação do médico geral.** Rio de Janeiro: Revinter, 1997.

- 26- **Sociedade Brasileira de urologia** <https://portaldaurologia.org.br/a-sbu/acesso> em 01/04/2024 11:29h.
- 27- Messing EM et cols. **Immediate hormonal therapy compared with observation after radical prostatectomy and pelvic lymphadenectomy in men with node-positive prostate cancer.** N Engl J Med 341:1781, 1999.
- 28- PORTH, C. **Fisiopatologia.** 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- 29- KRYVENKO, O. N.; EPSTEIN, J. I. **Changes in prostate cancer grading: Including a new patient-centric grading system.** *The Prostate*, v. 76, n. 5, p. 427–433, abr. 2016. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/pros.23142>.
- 30- ZALUSTKY, M. R. **Handbook of Nuclear Chemistry.** Boston, MA: Springer US, 2011. 3049 p. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-0720-2>.
- 31- OLIVEIRA, R; SANTOS, D.; FERREIRA, D.; COELHO, P.; VEIGA, F. **Preparações radiofarmacêuticas e suas aplicações.** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, n. 2, 2006.
- 32- DIAS, C.R.B.R. **Estudo comparativo da marcação do anticorpo anti-cd20 com 188Re.** Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2010.
- 33- SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA NUCLEAR (SBMN). **Medicina Nuclear.** Disponível em: <[http://www.sbm.org.br/site/medicina\\_nuclear](http://www.sbm.org.br/site/medicina_nuclear)>. Acesso em: 10 nov. 2024.
- 34- SAPIENZA, M. T.; MARONE, M. M. S.; CHIATTONE, C. S. **Contribuições da medicina nuclear para a avaliação dos linfomas.** *Revista Brasileira de Hematologiae Hemoterapia*. v. 23, n. 2, p. 79-92, 2001.
- 35- BAUM, R. P.; KLUGE, A. W.; KULKARNI, H.; SCHORR-NEUFING, U.; NIEPSCH, K.; BITTERLICH, M.N.; VAN ECHELD, C. J. A. **<sup>177</sup>Lu-DOTA 0-D-PHE1-TYR3- OCTREOTIDE (177Lu-DOTATOC) for peptide receptor radiotherapy in patients with advanced neuroendocrine tumours: a phase-ii study.** *Theranostics*, 6(4), 501–510, 2016a.
- 36- KASSIS, A.I.; ADELSTEIN, S.J. **Considerations in the selection of radionuclides for cancer therapy.** In: WELCH, M.J.; REDVANLY, C.S. *Handbook of Radiopharmaceuticals: radiochemistry and applications.* Chichester: Wiley, Cap. 27., 2003.
- 37- THOMAS, R.; CHEN, J.; ROUDIER, M.M.; VESSELLA, R.L.; LANTRY, L.E.; NUNN, A.D. **In vitro binding evaluation of <sup>177</sup>Lu-AMBA, a novel <sup>177</sup>Lu-labeled GRP-R agonist for systemic radiotherapy in human tissues.** *Clin Exp Metastasis*, DOI10.1007/s10585-008-9220-0, 2009.
- 38- KRATOCHWIL, C.; BRUCHERTSEIFER, F.; RATHKE, H.; BRONZEL, M.; APOSTOLIDIS, C.; WEICHERT, W.; HABERKORN, U.; GIESEL, F.L., MORGENSTERN, A. **Targeted Alpha Therapy of mCRPC with <sup>225</sup>Actinium-PSMA-617: Dosimetry estimate and empirical dose finding.** *J Nucl Med*, 117.191395, 2017.
- 39- KASSIS, A.I.; ADELSTEIN, S.J. **Considerations in the selection of radionuclides for cancer therapy.** In: WELCH, M.J.; REDVANLY, C.S. *Handbook of Radiopharmaceuticals: radiochemistry and applications.* Chichester: Wiley, Cap. 27., 2003.
- 40- ZALUTSKY, M. R. **Radionuclide Therapy.** In: VÉRTES, A.; NAGY, S.; ZOLTÁN, K. *Handbook of Nuclear Chemistry.* Netherlands: Kluwer Academic Publishers, v. 4. p. 315-348, 2003.

- 41- KNIGHT, L.C. **Radiolabeled peptides for tumor imaging**. In: WELCH, M.J.; REDVANLY, C.S. *Handbook of Radiopharmaceuticals: radiochemistry and applications*. Chichester: Wiley, Cap. 23., 2003.
- 42- MARESCA, K. P.; HILLIER, S. M.; FEMIA, F. J.; KEITH, D.; BARONE, C.; JOYAL, J.L.; ZIMMERMAN, C. N.; KOZIKOWSKI, A. P.; BARRETT, J. A.; ECKELMAN, W. C.; BABICH, J. W. **A series of halogenated heterodimeric inhibitors of prostate-specific membrane antigen (PSMA) as radiolabeled probes for targeting prostate cancer**. *J Med Chem*, v. 52, p. 347-357, 2009.
- 43- NANNI, C.; SCHIAVINA, R.; BRUNOCILLA, E.; BOSCHI, S.; BORGHESI, M.; ZANONI, L. **<sup>18</sup>F-Fluciclovine PET/CT for the detection of prostate cancer relapse: a comparison to <sup>11</sup>C-choline PET/ CT**. *Nucl Med*, 40:386–91, 2015.
- 44- HILLIER, S. M.; MARESCA, K. P.; FEMIA, F. J.; MARQUIS, J. C.; FOSS, C. A.; NGUYEN, N.; ZIMMERMAN, C. N.; BARRETT, J. A.; ECKELMAN, W. C.; POMPER, M. G.; JOYAL, J. L.; BABICH, J. W. **Pre clinical evaluation of novel glutamate-urea- lysine analogues that target prostate-specific membrane antigen as molecular imaging pharmaceuticals for prostate cancer**. *Cancer Res*, v. 69, n. 17, p. 6932- 6940, 2009.
- 45- SRINIVAS, P.R.; KRAMER, B.S.; SRIVASTAVA, S. **Trends in biomarker research for cancer detection**. *Lancet Oncol*, 2:698–704, 2001.
- 46- ETZIONI, R.; PENSON, D.F.; LEGLER, J.M.; DI TOMMASO, D.; BOER, R.; GANN, P.H. **Overdiagnosis due to prostate-specific antigen screening: lessons from U.S.prostate cancer incidence trends**. *J Natl Cancer Inst*, 94:981–90, 2002.
- 47- OSBORN, J.R.; AKHTAR, N.H.; VALLABHAJOSULA, S.; ANAND, A.; DEH, K.; TAGAWA, S.T. **Prostate specific membrane-based imaging**. *Urol Oncol*, 31:144–54, 2013.
- 48- HILLIER, S. M.; MARESCA, K. P.; FEMIA, F. J.; MARQUIS, J. C.; FOSS, C. A.; NGUYEN, N.; ZIMMERMAN, C. N.; BARRETT, J. A.; ECKELMAN, W. C.; POMPER, M. G.; JOYAL, J. L.; BABICH, J. W. **Preclinical evaluation of novel glutamate-urea- lysine analogues that target prostate-specific membrane antigen as molecular imaging pharmaceuticals for prostate cancer**. *Cancer Res*, v. 69, n. 17, p. 6932- 6940, 2009.
- 49- MHAWECH-FAUCEGLIA, P.; SMIRAGLIA, D.J.; HASHARA, W.; ANDREWS, C.; SCHWALLER, J.; SOUTH, S. **Prostate-specific membrane antigen expression is a potential prognostic marker in endometrial adenocarcinoma**. *Cancer Epidemiol Biomarkers Rev*, 17:571–7, 2008.
- 50- HOROSZEWICZ, J.S.; LEONG, S.S.; KAWINSKI, E.; KARR, J.P.; ROSENTHAL, H.; CHU, T.M. **LNCaP model of human prostatic carcinoma**. *Cancer Res*, 43:1809–18, 1983.
- 51- YAO, D.; TRABULSI, E.J.; KOSTAKOGLU, L.; VALLABHAJOSULA, S.; JOYCE, M.A.; NANUS, D.M. **The utility of monoclonal antibodies in the imaging of prostate cancer**. *Semin Urol Oncol*, 20:211–8, 2002.
- 52- PINTO, J.T.; SUFFOLETTO, B.P.; BERZIN, T.M.; QIAO, C.H.; LIN, S.; TONG, W.P. **Prostate-specific membrane antigen: a novel folate hydrolase in human prostatic carcinoma cells**. *Clin Cancer Res*, 2:1445–51, 1996.
- 53- TANEJA, S.S. **ProstaScint scan: contemporary use in clinical practice**. *Rev Urol*, 6(Suppl. 10):S19–28, 2004.

- 54- KHAN, A.; CARIDE, V.J. **Indium-111 capromab pendetide (ProstaScint) uptake in neurofibromatosis.** *Urology*, 56:154, 2000.
- 55- PILLAI, M.R.; NANABALA, R.; JOY, A.; SASIKUMAR, A.; RUSS, KNAPP, F.F. **Radiolabeled enzyme inhibitors and binding agents targeting PSMA: Effective theranostic tools for imaging and therapy of prostate cancer.** *Nuclear Medicine and Biology*, 43:692–720, 2016.
- 56- ZHOU, J.; NEALE, J.H.; POMPER, M.G.; KOZIKOWSKI, A.P. **NAAG peptidase inhibitors and their potential potency for diagnosis and therapy.** *Nat Rev Drug Discov*, 4:1015–26, 2005.
- 57- SODEE, D.B.; MALGURIA, N.; FAULHABER, P.; RESNICKM, I.; ALBERT, J.; BAKALE, G. **Multi-center ProstaScint imaging findings in 2154 patients with prostate cancer. The ProstaScint imaging centers.** *Urology*, 56:988–93, 2000.
- 58- TANG, H.; BROWN, M.; YE, Y.; HUANG, G.; ZHANG, Y.; WANG, Y.; ZHAI, H.; CHEN, X.; SHEN, T.Y.; TENNISWOOD, M. **Prostate targeting ligands based on N- acetylated  $\alpha$ -linked acidic dipeptidase.** *Biochem & Biophy Res Commun*, v. 307, p. 8-14, 2003.
- 59- MILOWSKY, M.I.; NANUS, D.M.; KOSTAKOGLU, L.; SHEEHAN, C.E.; VALLABHAJOSULA, S.; GOLDSMITH, S.J. **Vascular targeted therapy with anti-prostate-specific membrane antibody J591 in advanced solid tumors.** *J Clin Oncol*, 25:540–7, 2007.
- 60- SHARP, P. F.; GEMMEL, H. G.; MURRAY, A. D. **Practical nuclear medicine.** 3ed. Londres, UK: Springer, 2005.
- 61- PUJATTI, P. B. **Desenvolvimento de derivados da bombesina radiomarcados com Lutécio-177: Relação estrutura e potencial diagnóstico-terapêutico para tumor de próstata.** Dissertação - (Mestrado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, USP, São Paulo, 2009.
- 62- SILVA, Jefferson. J. J.. **Radiomarcção de inibidor de PSMA com 177Lu e avaliação biológica do potencial para aplicação no tratamento do câncer de próstata.** 2017. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo. Disponível em: <http://www.teses.usp.br>
- 63- WIECZOREK VILLAS BOAS, C. A. **Obtenção de kit de PSMA-617 para pronta marcação com lutécio-177 e sua avaliação na aplicabilidade no tratamento do câncer de próstata.** 2020. 209 p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo. Disponível em: [www.teses.usp.br](http://www.teses.usp.br)
- 64- STERZING, F.; KRATOCHWIL, C.; FIEDLER, H.; KATAYAMA, S.; HABL, G.; KOPKA, K.; AFSHAR-OROMIEH, A.; DEBUS, J.; HABERKORN, U.; GIESEL, F. L.
- 68Ga-PSMA-11 PET/CT: a new technique with high potential for the radiotherapeutic management of prostate cancer patients. **European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 43, n. 1, p. 34–41, 25 jan. 2016. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00259-015-3188-1>.
- 65- DASH, A.; KNAPP, F. F.; PILLAI, M. Targeted Radionuclide Therapy - An Overview. **Current Radiopharmaceuticals**, v. 6, n. 3, p. 152–180, 31 out. 2013. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1874-4710&volume=6&issue=3&spage=152>.
- 66- BANERJEE, S.; PILLAI, M. R. A.; KNAPP, F. F. (Russ). **Lutetium-177 Therapeutic Radiopharmaceuticals: Linking Chemistry, Radiochemistry, and Practical Applications.** *Chemical Reviews*, v. 115, n. 8, p. 2934–2974, 22 abr. 2015. Disponível em:

<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr500171e>.

67- LIU, S.; EDWARDS, D. S. Stabilization of <sup>90</sup>Y-labeled DOTA-Biomolecule conjugates using gentisic acid and ascorbic acid. **Bioconjugate Chemistry**, v. 12, n. 4, p. 554–558, 2001.

68- PUJATTI, Priscilla Brunelli; COSTA, A. F. E.; JONES, B. D.; COSTA, I. A.; MELLO, J. N. R. De; SANTOS, L. O. Dos. Tratamento De Tumores Neuroendócrinos Por Medicina Nuclear: Revisão Sistemática Da Eficácia E Segurança Do Radiofármaco Dotatate-177Lu. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, v. 6, p. 16, 2014. Disponível em: <https://riee.ufjf.emnuvens.com.br/riee/article/viewFile/2856/1065>.

69- JURISSON, S.; CUTLER, C.; SMITH, S. V. Radiometal Complexes: characterization and relevant in vitro studies. **Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 52, n. 3, p. 222–234, 2008.

70- MIKOLAJCZAK, R.; VAN DER MEULEN, N. P.; LAPI, S. E. Radiometals for imaging and theranostics, current production, and future perspectives. **Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals**, v. 62, n. 10, p. 615–634, ago. 2019. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/jlcr.3770>.

71- WEINEISEN, Martina; SIMECEK, J.; SCHOTTELIUS, M.; SCHWAIGER, M.; WESTER, H.-J. Synthesis and preclinical evaluation of DOTAGA-conjugated PSMA ligands for functional imaging and endoradiotherapy of prostate cancer. **EJNMMI Research**, v. 4, n. 1, p. 63, 25 dez. 2014. Disponível em: <http://www.ejnmires.com/content/4/1/63>.

72- CHATALIC, K. L. S.; HESKAMP, S.; KONIJNENBERG, M.; MOLKENBOER- KUENEN, J. D. M.; FRANSSEN, G. M.; GRONINGEN, M. C. C.; SCHOTTELIUS, M.; WESTER, H.-J.; VAN WEERDEN, W. M.; BOERMAN, O. C.; DE JONG, M. Towards Personalized Treatment of Prostate Cancer: PSMA I&T, a Promising Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Theranostic Agent. **Theranostics**, v. 6, n. 6, p. 849–861, 2016. Disponível em: <http://www.thno.org/v06p0849.htm>.

73- MCCARTHY, M.; LANGTON, T.; KUMAR, D.; CAMPBELL, A. Comparison of PSMA-HBED and PSMA-I&T as diagnostic agents in prostate carcinoma. **European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 44, n. 9, p. 1455–1462, 4 ago. 2017. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00259-017-3699-z>.

74- EDER, M.; SCHÄFER, M.; BAUDER-WÜST, U.; HULL, W. E.; WÄNGLER, C.; MIER, W.; HABERKORN, U.; EISENHUT, M. <sup>68</sup>Ga-complex lipophilicity and the targeting property of a urea-based PSMA inhibitor for PET imaging. **Bioconjugate Chemistry**, v. 23, n. 4, p. 688–697, 2012.

75- SCHWENCK, J.; REMPP, H.; REISCHL, G.; KRUCK, S.; STENZL, A.; NIKOLAOU, K.; PFANNENBERG, C.; LA FOUGÈRE, C. Comparison of <sup>68</sup>Ga-labelled PSMA- 11 and <sup>11</sup>C-choline in the detection of prostate cancer metastases by PET/CT. **European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 44, n. 1, p. 92–101, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00259-016-3490-6>.

76- ALONSO, O.; DOS SANTOS, G.; GARCÍA FONTES, M.; BALTER, H.; ENGLER, H. <sup>68</sup>Ga-PSMA and <sup>11</sup>C-Choline comparison using a tri-modality PET/CT-MRI (3.0 T) system with a dedicated shuttle. **European Journal of Hybrid Imaging**, v. 2, n. 1, p. 1–16, 2018.

77- CARDINALE, J.; MARTIN, R.; REMDE, Y.; SCHÄFER, M.; HIENZSCH, A.; HÜBNER, S.; ZERGES, A.-M.; MARX, H.; HESSE, R.; WEBER, K.; SMITS, R.; HOEPFING, A.; MÜLLER, M.;

- NEELS, O.; KOPKA, K. Procedures for the GMP-Compliant Production and Quality Control of [18F]PSMA-1007: A Next Generation Radiofluorinated Tracer for the Detection of Prostate Cancer. **Pharmaceuticals**, v. 10, n. 4, p. 77, 27 set. 2017. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1424-8247/10/4/77>.
- 78- RAUSCHER, I.; KRÖNKE, M.; KÖNIG, M.; GAFITA, A.; MAURER, T.; HORN, T.; SCHILLER, K.; WEBER, W. A.; EIBER, M. Matched-pair comparison of 68 Ga- PSMA-11 and 18 F-PSMA-1007 PET/CT: frequency of pitfalls and detection efficacy in biochemical recurrence after radical prostatectomy . **Journal of Nuclear Medicine**, p. *jnumed*.119.229187, 2019.
- 79- MACHULKIN, A. E.; IVANENKOV, Y. A.; ALADINSKAYA, A. V.; VESELOV, M. S.; ALADINSKIY, V. A.; BELOGLAZKINA, E. K.; KOTELIANSKY, V. E.; SHAKHBAZYAN, A. G.; SANDULENKO, Y. B.; MAJOUGA, A. G. **Small-molecule PSMA ligands. Current state, SAR and perspectives.** *Journal of Drug Targeting*, v. 24, n. 8, p. 679–693, 13 set. 2016. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/1061186X.2016.1154564>.
- 80- BENESOVA, M.; SCHAFFER, M.; BAUDER-WUST, U.; AFSHAR-OROMIEH, A.; KRATOCHWIL, C.; MIER, W.; HABERKORN, U.; KOPKA, K.; EDER, M. Preclinical Evaluation of a Tailor-Made DOTA-Conjugated PSMA Inhibitor with Optimized Linker Moiety for Imaging and Endoradiotherapy of Prostate Cancer. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 56, n. 6, p. 914–920, 1 jun. 2015. b. Disponível em: <http://jnm.snmjournals.org/cgi/doi/10.2967/jnumed.114.147413>.
- 81- KRATOCHWIL, C.; GIESEL, F. L.; EDER, M.; AFSHAR-OROMIEH, A.; BENEŠOVÁ, M.; MIER, W.; KOPKA, K.; HABERKORN, U. [177Lu] Lutetium-labelled PSMA ligand-induced remission in a patient with metastatic prostate cancer. **European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 42, n. 6, p. 987–988, 9 maio. 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00259-014-2978-1>.
- 82- AHMADZADEHFAR, H.; RAHBAR, K.; KÜRPIG, S.; BÖGEMANN, M.; CLAESENER, M.; EPPARD, E.; GÄRTNER, F.; ROGENHOFER, S.; SCHÄFFERS, M.; ESSLER, M. Early side effects and first results of radioligand therapy with 177Lu-DKFZ-617 PSMA of castrate-resistant metastatic prostate cancer: a two- centre study. **EJNMMI Research**, v. 5, n. 1, p. 36, 20 dez. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s13550-015-0114-2>.
- 83- BRASIL. Instrução Normativa IN No 37, de 21 de agosto de 2019. Brasil, p. 8, 2019. Disponível em: <http://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-37-de-21-de-agosto-de-2019-211914085>. Acesso em: 14 abr. 2020.
- 84- KOZIKOWSKI, A.P.; ZHANG, J.; NAN, F. Synthesis of urea-based inhibitors as active site probes of glutamate carboxypeptidase II: efficacy as analgesic agents. **J Med Chem**, 47:729–1738, 2004.
- 85- BARKHAUSEN, C. **Production of non carrier added (n.c.a.) 177 Lu for radiopharmaceutical applications.** 2011. 120 p. Technische Universität München, 2011. Disponível em: <https://d-nb.info/1019587458/34>.
- 86- DASH, A.; PILLAI, M. R. A.; KNAPP, F. F. Production of 177Lu for Targeted Radionuclide Therapy: Available Options. **Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 49, n. 2, p. 85–107, 17 jun. 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s13139-014-0315-z>.
- 87- PRICE, E. W.; ORVIG, C. **Matching chelators to radiometals for radiopharmaceuticals.** **Chemical Society Reviews**, v. 43, n. 1, p. 260–290, 2014.
- 88- HUANG, S. S.; WANG, X.; ZHANG, Y.; DOKE, A.; DIFILIPPO, F. P.; HESTON, W. D.

**Improving the Biodistribution of PSMA-T** argeting racers With a Highly Negatively Charged Linker. *The Prostate*, v. 74, p. 702–713, 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/pros.22789>.

89- LU, G.; MARESCA, K. P.; HILLIER, S. M.; ZIMMERMAN, C. N.; ECKELMAN, W. C.; JOYAL, J. L.; BABICH, J. W. **Synthesis and SAR of  $^{99m}\text{Tc}/\text{Re}$ -labeled small molecule prostate specific membrane antigen inhibitors with novel polar chelates.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 23, n. 5, p. 1557–1563, mar. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.09.014>.

90- DI IORIO, V.; Boschi, S.; Cuni, C.; Monti, M.; Severi, S.; Paganelli, G.; Masini, C. **Production and Quality Control of [ $^{177}\text{Lu}$ ] Lu-PSMA-I&T: Development of an Investigational Medicinal Product Dossier for Clinical Trials.** *Molecules* 2022, 27, 4143. <https://doi.org/10.3390/Molecules27134143>.

91- WEINEISEN, Martina; SCHOTTELIUS, Margret; SIMECEK, Jakub; BAUM, Richard P.; YILDIZ, Akin; BEYKAN, Seval; KULKARNI, Harshad R.; LASSMANN, Michael; KLETTE, Ingo; EIBER, Matthias; SCHWAIGER, Markus; WESTER, Hans-Jürgen.  **$^{68}\text{Ga}$ - and  $^{177}\text{Lu}$ -labeled PSMA I&T: Optimization of a PSMA targeted theranostic concept and first proof of concept human studies.** *Journal of Nuclear Medicine*, published on June 18, 2015 as doi:10.2967/jnumed.115.158550

92- YUSUFI, Nahid; WURZER, Alexander; HERZ, Michael; D’ALESSANDRIA, Calogero; FEUERECKER, Benedikt; WEBER, Wolfgang; WESTER, Hans-Jürgen; NEKOLLA, Stephan; EIBER, Matthias. **Comparative Preclinical Biodistribution, Dosimetry, and Endoradiotherapy in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer Using  $^{19}\text{F}/^{177}\text{Lu}$ -rhPSMA-7.3 and  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA I&T.** *J Nucl Med* 2021; 62:1106–1111 DOI: 10.2967/jnumed.120.254516.

93- KRAIHAMMER, Martin; GARNUSZEK, Piotr; BAUMAN, Andreas; MAURIN, Michael; LAFONT, Manuel Alejandro; HAUBNER, Roland; GUGGENBERG, Elisabeth von; GABRIEL, Michael; DECRISTOFORO, Clemens. **Improved quality control of [ $^{177}\text{Lu}$ ] Lu-PSMA I&T.** *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry* (2023) 8:7 <https://doi.org/10.1186/s41181-023-00191-6>

94- CANKAYA, Aylin; BALZER, Matthias; AMTHAUER, Holger; BRENNER, Winfried; SPRECKELMEYER, Sarah. **Optimization of  $^{177}\text{Lu}$ -labelling of DOTA-TOC, PSMA-I&T and FAPI-46 for clinical application.** *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry* (2023) 8:10 <https://doi.org/10.1186/s41181-023-00196-1>

95- VYAS, Madhusudan; LIM, Remy; FAGAN, Jessica; CHANDRASHEKAR, Rudresh. **Stability Matters: Radiochemical Stability of Therapeutic Radiopharmaceutical  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA I&T.** *J Nucl Med Technol* 2022; 50:244–247 DOI: 10.2967/jnmt.121.262423

96- CHATALIC, Kristell L.S., HESKAMP, Sandra; KONIJNENBERG, Mark; MOLKENBOER-KUENEN, Janneke D. M.; FRANSSSEN, Gerben M.; CLAHSSEN-VAN GRONINGEN, Marian C.; SCHOTTELIUS, Margret; WESTER, Hans-Jürgen; WEERDEN, Wytske M. van; BOERMAN, Otto C.; JONG, Marion de. **Towards Personalized Treatment of Prostate Cancer: PSMA I&T, a Promising Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Theranostic Agent.** *Theranostics* 2016; 6(6): 849-861. doi: 10.7150/thno.14744

97- BOAS, Cristian Antonio Wieczorek Villas; SILVA, Jefferson de Jesus; DIAS, Luís Alberto Pereira; FREIRE, Maria Renata Brandão; BALIEIRO, Luiza Mascarenhas; SANTOS, Carolina Silva Ferreira dos; VIVALDINI, Bianca Franchesqueti; BENEDETTO, Raquel; VIEIRA, Daniel Perez; PASSOS, Priscila de Queiroz Souza; MARUMO, Maria Helena; TEIXEIRA, Luis Felipe S;

ARAÚJO; Elaine Bortoleti de. **In vitro and in vivo response of PSMA-617 radiolabeled with CA and NCA lutetium-177.** Applied Radiation and Isotopes. 2022 Feb;180: 110064. doi: 10.1016/j.apradiso.2021.110064. Epub 2021 Dec 14.

98- CHAKRABORTY, Avik; MITRA, Arpit; TAWATE, Megha; SAHOO, Sudip; LAD, Sangita; RAKSHIT, Sutapa; GAIKWAD, Sujay; BASU, Sandip; SHIMPI, Hemant; BANERJEE, Sharmila. **Therapeutic Multidose Preparation of a Ready-to-Use<sup>177</sup>Lu-PSMA-617 Using Carrier Added Lutetium-177 in a Hospital Radiopharmacy and Its Clinical Efficacy.** Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals Vol. 36, No. 8, 2021.

99- ANTUNES, A. A.; REIS, S. T.; LEITE, K. R.; REAL, D. M.; CANAVEZ, J. M. S.; LOPES; L. H. C.; DALL'OGGIO, M. F.; SROUGI, M. **PGC and PSMA in prostate cancer diagnosis: tissue analysis from biopsy samples.** Int Braz J Urol. Vol. 39 (5): 649-656, September - October, 2013.

100- PATELL, K.; KURIAN, M.; GARCIA, J. A.; MENDIRATTA, P.; BARATA, P. C.; JIA, A. Y.; SPRATT, D. E.; BROWN. J. R. **Lutetium-177 PSMA for the treatment of metastatic castrate resistant prostate cancer: a systematic review,** Expert Review of Anticancer Therapy, 2023. DOI: 10.1080/14737140.2023.2213892

101- RAWLA, P. **Epidemiologia do câncer de próstata.** World Journal of Oncology, ISSN 1920-4531. Volume 10, Número 2, abril de 2019, páginas 63-89.

102- ABFM. Associação Brasileira de Física Médica. **Atribuições do Especialista em Física Médica.** <https://www.abfm.org.br/paginas/atribuicoes-do-especialista.php>

103- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira.** 6 ed. Volume I, 2019, Alterada pela Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 844, de 22 de fevereiro de 2024. Brasília, Brasil.

104- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (Brasil). **Lista consolidada das DCB: atualizada em 01/11/2024 – VIGENTE.** Disponível em: <https://bibliotecadigital.anvisa.gov.br/jspui/handle/anvisa/12267> Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-935-de-30-de-outubro-de-2024-593324973>

105- MORIGI, J. J.; STRICKER, P. D.; VAN-LEEUEWEN, P. J.; TANG, R.; HO, B.; NGUYEN, Q.; HRUBY, G.; FOGARTY, G.; JAGAVKAR, R.; KNEEBONE, A.; HICKEY, A.; FANTI, S.; TARLINTON, L.; EMMETT, L. **Prospective Comparison of 18F-Fluoromethylcholine Versus 68Ga-PSMA PET/CT in Prostate Cancer Patients Who Have Rising PSA After Curative Treatment and Are Being Considered for Targeted Therapy.** J Nucl Med., v. 6, p. 1185-1190, 2015.

106- BREEMAN, W.A.; DE JONG, M.; VISSER, T.J.; ERION, J.L; KREENING, E.P. **Optimising conditions for radiolabeling of DOTA-peptides with 90Y, 111In, and 177 Lu at high specific activities.** Eur J Nucl Med Mol Imaging, v. 30, n. 6, p. 917- 920, 2003.

107- KWEKKEBOOM, D.J.; TEUNISSEN, J.J.; BAKKER, W. H.; KOOIJ, P. P. **Radiolabeled somatostatin analog [177lu-dota 0,tyr3]octreotate in patients with endocrine gastroenteropancreatic tumors.** J. Clin. Oncol, 23:2754–2762, 2005.

108- EDER, M.; HENNRICH, U. **[68Ga] Ga-PSMA-11: The First FDA-Approved 68Ga-Radiopharmaceutical for PET Imaging of Prostate Cancer.** Pharmaceuticals 2021, 14, 713. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ph14080713> Disponível em:

<https://www.mdpi.com/journal/pharmaceuticals>

109- KESCH, C.; VINSENSIA, M.; RADTKE, J. P.; SCHLEMMER, H. P., HELLER, M., ELLERT, E.; HOLLAND-LETZ, T.; DUENSING, S.; GRABE, N., AFSHAR-OROMIEH, A.; WIECZOREK, K.; SCHÄFER, M.; NEELS, O. C.; CARDINALE, J.; KRATOCHWIL, C.; HOHENFELLNER, M.; KOPKA, K.; HABERKORN, U.; HADASCHIK, B. A.; GIESEL; F. L. **Intraindividual Comparison of <sup>18</sup>F-PSMA-1007 PET/CT, Multiparametric MRI, and Radical Prostatectomy Specimens in Patients with Primary Prostate Cancer: A Retrospective, Proof-of-Concept Study**, The Journal of Nuclear Medicine. Vol. 58. Nº. 11. November 2017. DOI: 10.2967/jnumed.116.189233 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28473595/>

110- JANSSEN, J.; NOORDZIJ, W.; VELLEMAN, T.; JONG, I. J. de; LANGENDIJK, J. A.; VERZIJLBERGEN, J. F.; STORMEZAND, G. N.; ALUWINI, S. **Skeletal <sup>18</sup>F-PSMA-1007 uptake in prostate cancer patients**. Ther Adv Med Oncol. 2023 Jun 29;15: 17588359231179311.doi: 10.1177/17588359231179311 Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10333984/>

111- NIU, X.; LI, Y.; WANG, J.; MEI, X.; ZHAO X.; LIU, T.; XU, S.; HAN, X.; CHENG, J. **Diagnostic value of <sup>18</sup>F-PSMA-1007 PET/CT for predicting the pathological grade of prostate câncer**. Cancer Biology & Therapy. 2024, Vol. 25, Nº. 1, 2287120, DOI: 10.1080/15384047.2023.2287120. <https://doi.org/10.1080/15384047.2023.2287120>

112- SARTOR, O.; BAGHIAN, A. **Prostate specific membrane antigen binding radiopharmaceuticals: Current data and new concepts**. Frontiers in medicine, v. 9, 2022.

113- SARTOR, O. et al. **Lutetium-177–PSMA-617 for metastatic castration-resistant prostate cancer**. The New England journal of medicine, v. 385, n. 12, p. 1091–1103, 2021. DOI: 10.1056/NEJMoa2107322

114- ANVISA. **Resolução-RE Nº 4.884, de 21 de dezembro de 2023**. Diário Oficial da União Resolução-RE nº 4.884 de 21 de dezembro de 2023, publicado em 22/12/2023, edição 243, seção 1, p. 192. Disponível em: <https://www.editoraroncarati.com.br/v2/Diario-Oficial/Diario-Oficial/AGENCIA-NACIONAL-DE-VIGILANCIA-SANITARIA-ANVISA-DOU-DE-22-12-2023.html>

115- HECK, M. M.; TAUBER, R.; SCHWAIGER, S.; RETZ, M.; D’ALESSANDRIA, C.; MAURER, T.; GAFITA, A.; WESTER, H.-J.; GSCHWEND, J. E.; WEBER, W. A.; SCHWAIGER, M.; KNORR, K.; EIBER, M. **Treatment Outcome, Toxicity, and Predictive Factors for Radioligand Therapy with <sup>177</sup>Lu-PSMA-I&T in Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer**. European Urology, v. 75, n. 6, p. 920–926, jun. 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030228381830873X>.

116- EP - EUPOPEAN PHARMACOPOEIA. Gallium (68Ga) PSMA-11 injection, 11ed., 2023.

117- OKARVI, S. M. **Recent developments of prostate-specific membrane antigen (PSMA)-specific radiopharmaceuticals for precise imaging and therapy of prostate cancer: an overview**. Clinical and Translational Imaging, v. 7, n. 3, p. 189–208, 18 jun. 2019.

118- TATEISHI, U. **Prostate-specific membrane antigen (PSMA)–ligand positron emission tomography and radioligand therapy (RLT) of prostate cancer**. Japanese Journal of Clinical Oncology, v. 50, n. 4, p. 349–356, 9 mar. 2020.

119- PLICHTA, KA; GRAVES, SA; BUATTI, JM **Teranósticos de antígeno de membrana específico da próstata (PSMA) para tratamento de câncer de próstata oligometastático**. Revista Internacional de Ciências Moleculares , v. 22, n. 22, pág. 12095, 2021.

120- SHEEHAN, B. et al. **Prostate-specific membrane antigen biology in lethal prostate cancer**

**and its therapeutic implications.** European urology focus, v. 8, n. 5, p. 1157–1168, 2022.

121- DELUCE, J. E. et al. **Emerging biomarker-guided therapies in prostate cancer.** Current oncology (Toronto, Ont.), v. 29, n. 7, p. 5054–5076, 2022.

122- FERDINANDUS, J. et al. **Prostate-specific membrane antigen theranostics: Therapy with lutetium-177.** Current opinion in urology, v. 28, n. 2, p. 197–204, 2018.

123- FREIRE, M. et al., **Development of a Ready-to-Use PSMA-11 Kit Formulation and Biological Evaluation of Binding Affinity.** Advances in Molecular Imaging, 13, 7-22, 2024.

124- A.C. Camargo. **Tipos de câncer.** Disponível em: <<https://accamargo.org.br/sobre-o-cancer/tipos-de-cancer>> Acesso em: 09 jan. 2024

125- Saude e Bem Estar. **Urologia.** Disponível em: <<https://www.saudebemestar.pt/pt/clinica/urologia/cancro-da-prostata/>> Acesso em: 20 jul. 2023

**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.**