



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Farmácia  
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Farmacêutica  
Mestrado Profissional

## **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

# **DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO DE UM *KIT* LIOFILIZADO DE DOTA- TOC PARA MARCAÇÃO COM GÁLIO-68 PARA DIAGNÓSTICO EM TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS**

Patrícia Machado Nabinger

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Marlise Araújo dos Santos

Porto Alegre, 2015

PATRÍCIA MACHADO NABINGER

**DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO DE UM *KIT* LIOFILIZADO DE DOTA-  
TOC PARA MARCAÇÃO COM GÁLIO-68 PARA DIAGNÓSTICO EM  
TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS**

Dissertação de mestrado desenvolvida com a finalidade de obtenção de grau de Mestre em Biotecnologia Farmacêutica pelo PPGBF-PUCRS.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Marlise Araújo dos Santos, Ph.D.

Porto Alegre, 2015

## RESUMO

O Gálio-68 ( $^{68}\text{Ga}$ ), um radionuclídeo emissor de pósitrons extremamente promissor, apresenta grandes vantagens quando comparado a outros radionuclídeos para uso em Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET), como o flúor-18 e carbono-11. Diferentemente destes radionuclídeos, que são produzidos em cíclotrons, o  $^{68}\text{Ga}$  é produzido em gerador a partir de um radionuclídeo de longa vida útil, o Germânio-68 ( $^{68}\text{Ge}$ ), o que permite sua distribuição mesmo em centros de Medicina Nuclear que se localizem muito distantes de cíclotrons. Apesar de a radiofarmácia com  $^{68}\text{Ga}$  ter se desenvolvido muito nos últimos anos em todo o mundo, o Brasil ainda tem somente quatro centros que possuem essa tecnologia disponível. Isto se deve especialmente à dificuldade de utilização, já que os peptídeos necessários para a marcação dos radiofármacos são importados. Dentre os radiofármacos que estão sendo mais utilizados no mundo, destacam-se os DOTA-peptídeos, análogos da somatostatina utilizados no diagnóstico de tumores de origem neuroendócrina.

Diante do cenário atual, este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de um *kit* diagnóstico de DOTA-TOC para marcação com  $^{68}\text{Ga}$ , com altos rendimento de marcação e pureza radioquímica, e, assim, estimular a utilização desse radionuclídeo inovador no Brasil.

**Palavras-chave:** DOTA-TOC; DOTA-TOC-Ga-68; gálio-68; gerador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ ; tumores neuroendócrinos; tomografia por emissão de pósitrons; PET/CT.

## ABSTRACT

The gallium-68 ( $^{68}\text{Ga}$ ), an extremely promising positron-emitting radionuclide, has major advantages when compared to other radionuclides used in Positron Emission Tomography (PET), like fluor-18 and carbon-11. Differently from these PET radionuclides, gallium-68 is available from a  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator, which allows its distribution even in nuclear medicine centers located far from cyclotrons. In recent years, an increase in the use of  $^{68}\text{Ga}$  PET radiopharmacy was observed around the world. However, in Brazil there is still only four centers with this technology available, mainly due to the difficulty in the access. Radiopharmaceuticals used for diagnostics are scarcely accessible in our country. Among radiopharmaceuticals most used around the world are the DOTA-peptides, somatostatin analogs for the diagnosis of neuroendocrine tumors.

Considering the present scenario, this study aimed to develop a diagnostic kit of DOTA-TOC for labeling with  $^{68}\text{Ga}$ , with high radiolabeling yield and high radiochemical purity, thus stimulating the use of this innovative radionuclide in Brazil.

**Keywords:** DOTA-TOC; DOTA-TOC-Ga-68; gallium-68;  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator; neuroendocrine tumors; positron emission tomography; PET/CT.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	11
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	12
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
1.1 TUMORES NEUROENDÓCRINOS .....	13
1.2 MEDICINA NUCLEAR .....	15
1.3 TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS (PET) .....	15
1.4 RADIONUCLÍDEOS EMISSORES DE PÓSITRONS .....	18
1.4.1 Flúor-18 .....	19
1.4.2 Carbono-11 .....	20
1.4.3 Nitrogênio-13 .....	20
1.4.4 Oxigênio-15 .....	21
1.4.5 Gálio-68 .....	21
1.5 GERADOR DE $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .....	22
1.6 PLATAFORMA DOTA E DOTA-PEPTÍDEOS .....	23
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	26
2.1 OBJETIVO GERAL .....	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	26
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	27
3.1 LAVAGEM ÁCIDA .....	27
3.2 FRASCOS PARA ELUIÇÃO E MARCAÇÃO DO GERADOR DE $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .....	27
3.3 FRASCO P .....	28
3.4 LIOFILIZAÇÃO .....	28
3.5 TESTES DE MARCAÇÃO .....	28
3.6 CONTROLE DE QUALIDADE .....	30

<b>4</b>	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	<b>32</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>33</b>
<b>6.</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>38</b>
<b>7.</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>39</b>
<b>8.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>40</b>
<b>9</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>41</b>
<b>10</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>47</b>
10.1	EMBALAGEM FINAL DO PRODUTO DOTATOC.....	47
10.2	BULA DO PRODUTO DOTATOC .....	48
10.3	DECLARAÇÃO DA EMPRESA GRUPO RPH ATESTANDO O LANÇAMENTO DO PRODUTO NO MERCADO NACIONAL.....	50

**LISTA DE FIGURAS**

<b>FIGURA 1</b> – Desenvolvimento de análogos da somatostatina para variadas aplicações clínicas.....	13
<b>FIGURA 2</b> – Esquema demonstrando decaimento por emissão de pósitrons.....	17
<b>FIGURA 3</b> – Esquema demonstrando esquema de produção do $^{68}\text{Ge}$ e decaimento do $^{68}\text{Ga}$ .....	21
<b>FIGURA 4</b> – Estrutura do $[\text{Tyr}^3]\text{Octreotide}$ (TOC).....	23
<b>FIGURA 5</b> – Estrutura do DOTA.....	24
<b>FIGURA 6</b> – $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC.....	24
<b>FIGURA 7</b> – Rendimento da marcação nas três formulações testadas.....	32
<b>FIGURA 8</b> – Pureza Radioquímica nas três formulações testadas.....	33
<b>FIGURA 9</b> – pH do frasco de produtos (L) nas três formulações testadas.....	34
<b>FIGURA 10</b> – pH do frasco de resíduos (W) nas três formulações testadas.....	34
<b>FIGURA 11</b> – Impurezas encontradas no frasco W nas três formulações realizadas.....	35
<b>FIGURA 12</b> – Impurezas retidas na $\text{C}_{18}$ nas três formulações realizadas.....	36

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**NET:** Tumores neuroendócrinos

**CT:** Tomografia computadorizada

**MRI:** Ressonância magnética

**SSTR:** Receptores de somatostatina

**PRRT:** Terapia radionuclídica baseada em receptores de peptídeo

**PET:** Tomografia por emissão de pósitrons

**SPECT:** Tomografia por emissão de fóton único

**EDTA:** Ácido etilenodiaminotetraacético

**PRQ:** Pureza radioquímica

**ANOVA:** Análise de variância

**SD:** Desvio padrão



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 TUMORES NEUROENDÓCRINOS

Os tumores neuroendócrinos (NET) são um vasto grupo de neoplasias incomuns derivadas de células neuroendócrinas. Todos esses tumores apresentam superexpressão dos receptores e transportadores específicos, capacidade de sintetizar peptídeos e hormônios e para realizar a descarboxilação e captação de precursores de aminas biogênicas (KOOPMANS et al., 2009).

Para o correto tratamento de pacientes com tumores neuroendócrinos, é necessário saber, com a maior precisão possível, a sua localização e estágio. Para adquirir esse conhecimento, está disponível uma ampla gama de técnicas de diagnóstico, que vão desde ensaios de marcadores plasmáticos específicos ou seus metabólitos urinários, às técnicas de imagem, como radiologia convencional, endoscopia, tomografia computadorizada (CT), ressonância magnética (MRI) e técnicas de medicina nuclear (KOOPMANS et al., 2009).

Técnicas de Medicina Nuclear geralmente utilizam receptores de somatostatina (SSTRs), receptor de membrana acoplado à proteína G, a fim de visualizar os NETs. Até o presente momento, foram caracterizados cinco subtipos de receptores capazes de ligar-se à somatostatina com afinidade em nível nanomolar, SSTR-1 a -5 (REUBI et al., 2003). A somatostatina é um ácido polipeptídico amplamente distribuído por diferentes órgãos e tecidos, incluindo o sistema nervoso central. Os estudos estruturais e funcionais sobre esse peptídeo demonstraram quais os aminoácidos componentes da molécula são considerados fundamentais para a sua atividade e, portanto, uma série de peptídeos que mostram semelhanças na afinidade de ligação da somatostatina nativa tem sido sintetizada (VOLANTE et al., 2004).

Análogos sintéticos de somatostatina (octreotídeo, lanreotídeo, [Tyr<sup>3</sup>]-octreotídeo, [Tyr<sup>3</sup>]-octreotato) (Fig. 1) têm sido amplamente utilizados para o diagnóstico e terapia de câncer nos últimos anos. Eles possuem grande afinidade pelos SSTRs, rápida internalização, depuração sanguínea e excreção (OKARVI, SM, 2008). A superexpressão de muitos SSTRs em vários tumores humanos e em metástases pode ser utilizada como alvo desses análogos sintéticos de somatostatina, como [Tyr<sup>3</sup>]-octreotídeo, quando marcados com radionuclídeos, tais como <sup>99m</sup>Tc, <sup>111</sup>In e <sup>68</sup>Ga, com o fim de diagnosticar os NETs (WIN et al., 2007).

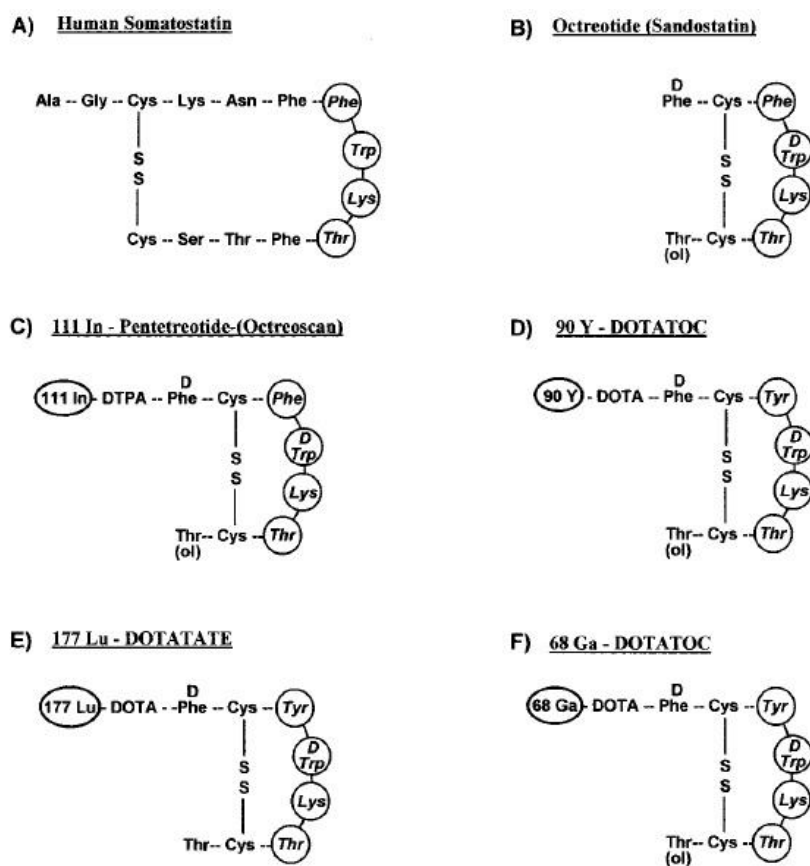


Figura 1. Desenvolvimento de análogos da somatostatina para variadas aplicações clínicas. A, somatostatina humana. B, octreotide (Sandostatin). C, <sup>111</sup>In-pentetreotide [<sup>111</sup>In-DTPA-[D-Phe<sup>1</sup>]-octreotide (Octreoscan). D, <sup>90</sup>Y-DOTATOC (<sup>90</sup>Y-DOTA-[D-Phe<sup>1</sup>, Tyr<sup>3</sup>] octreotide) para a radioterapia. E e F, somatostatina de segunda geração, <sup>177</sup>Lu-DOTATATE e <sup>68</sup>Ga-DOTATOC. Fonte: Adaptado de Reubi, J.C., 2003.

A cintilografia de receptores de somatostatina empregando <sup>111</sup>In-DTPA-octreotídeo (OctreoScan<sup>®</sup>) foi o primeiro passo para a modalidade de imagem na avaliação de rotina para

a localização e o estadiamento de tumores neuroendócrinos, bem como para o subsequente planejamento radioterápico e/ou terapia radionuclídica baseada em receptores de peptídeo (PRRT). Esse método, contudo, é muito caro para ser utilizado no Brasil, uma vez que o radionuclídeo não é produzido no país, além de possuir baixa resolução de imagem, quando comparado à cintilografia com tecnécio-99m e com imagens de tomografia por emissão de pósitrons (PET).

## 1.2 MEDICINA NUCLEAR

A Medicina Nuclear é uma área da imagenologia totalmente baseada na fisiologia dos tecidos e órgãos. Através dela, é possível visualizar os processos fisiológicos de forma não invasiva, com a utilização de radiofármacos e de equipamentos adequados para a aquisição das imagens, as gama câmaras. Considerada uma ferramenta de diagnóstico dinâmico em contínuo progresso, cresceu de simples testes *in vitro* até a avaliação funcional de órgãos e sistemas *in vivo* (CARLSSON, S., 1995).

Dentre os principais envolvidos na história da Medicina Nuclear, devem ser citados George de Hevesy, químico húngaro responsável pelo primeiro uso de um elemento radioativo como radiotraçador no ano de 1911; Hermann Blumgart, que pela primeira vez fez uso de um radionuclídeo em humanos com objetivo diagnóstico, uma mistura de  $^{214}\text{Bi}$  e  $^{214}\text{Pb}$ , em 1925; John Lawrance, quem pela primeira vez utilizou um radionuclídeo ( $^{32}\text{P}$ ) com objetivo terapêutico, em 1937; e Henry Wagner, considerado o “pai da Medicina Nuclear”, por todos seus esforços na divulgação da área (PATTON, D., 2000).

## 1.3 TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS (PET)

A tomografia por emissão de pósitrons (PET) oferece, além das imagens com melhor resolução quando comparadas à Medicina Nuclear convencional, dados precisos de concentração de radioatividade, permitindo a quantificação das áreas de captação, o que é essencial para que o objetivo de acompanhar a resposta tumoral durante a terapia seja alcançado. Além disso, o PET pode ser de grande valia para a avaliação da dose absorvida antes e durante o tratamento, o que é essencial para a dosimetria específica de cada paciente, em particular para PRRT (REUBI et al., 2000).

A tomografia por emissão de pósitrons (PET) foi criada na década de 1970, devido, em grande parte, ao trabalho pioneiro de Michael Edward Phelps, um químico e biofísico americano (PHELPS & TER-POGOSSIAN, 1975). Embora tenha sido inicialmente desenvolvido como uma ferramenta de pesquisa, nos últimos vinte anos o PET tornou-se cada vez mais utilizado na prática clínica, especialmente na área oncológica (WORKMAN & COLEMAN, 2006). No Brasil, a difusão do PET iniciou-se há, aproximadamente, dez anos. Nos últimos anos, especialmente após a crise do Molibdênio (GONÇALVES, O.D., 2009), o PET recebeu um grande incentivo, e a Agência Nacional de Saúde (ANS) incluiu alguns procedimentos em PET em sua tabela, tornando esses procedimentos cobertos pelos convênios particulares, que passaram a reembolsá-los.

Em 1998, o primeiro equipamento híbrido de PET foi criado, o PET/CT, e já em 2001 a comercialização desses equipamentos foi iniciada. A combinação do PET com a tecnologia da tomografia computadorizada (CT) permitiu a aquisição de imagens com altíssimas sensibilidade e especificidade, para o diagnóstico das alterações causadas por diversas doenças, especialmente as doenças oncológicas (WORKMAN & COLEMAN, 2006). A sobreposição de imagens funcionais (PET: alta sensibilidade para detectar lesões) com as imagens anatômicas (CT: lugar exato das alterações) garantiu uma melhora considerável na

localização das lesões no paciente. Hoje, já estão disponíveis para comercialização equipamentos híbridos de PET e ressonância magnética (MRI), o PET/MRI. Segundo Antoch & Bockisch (2009), o MRI possui vantagens quando comparado ao CT, dentre elas:

- Fornece maior contraste dos tecidos moles, o que é especialmente importante em imagens cerebrais, abdominais e do sistema musculoesquelético;
- As imagens podem ser adquiridas em praticamente qualquer orientação, sem que se faça necessário reposicionar o paciente;
- Pode fornecer informações funcionais adicionais às obtidas pelo PET;
- Não expõe o paciente à radiação ionizante.

No entanto, os mesmos autores também mostram as desvantagens deste método, como:

- Tempos de exame muito mais longos, chegando a cerca de 60 minutos. Essa característica pode resultar em grandes dificuldades para pacientes com dores;
- O equipamento em si (MRI) é muito mais caro, resultando em um aumento no custo final do exame;
- Pacientes que possuem certos implantes metálicos e marca-passos não podem realizar o exame;
- Possui menor sensibilidade que o CT para detecção de lesões pulmonares.

A evolução do PET, hoje amplamente utilizado no diagnóstico e no estadiamento de câncer e doenças cardíacas e neurológicas, resultou em um grande impacto no atendimento

clínico, beneficiando de forma positiva os pacientes que realizam esse tipo de procedimento. De acordo com Valadares e cols. (2011), cerca de 30% dos pacientes com câncer de esôfago que realizaram exames PET/CT no estadiamento pré-operatório tiveram uma mudança na conduta terapêutica, evitando, assim, cirurgias desnecessárias. Já Casneuf e cols., (2006), demonstraram mudança na conduta terapêutica em cerca de 70% dos pacientes que realizaram exames de PET na avaliação de câncer pancreático.

O PET utiliza radionuclídeos emissores de pósitrons. Pósitrons são as antipartículas de elétrons, iguais em massa e tamanho, porém com carga positiva. Pósitrons são formados durante o decaimento de radionuclídeos que têm um excesso de prótons no seu núcleo em comparação com o número de nêutrons. Quando de seu decaimento, esses radionuclídeos emitem um pósitron e um neutrino (Fig. 2). Enquanto o neutrino escapa sem interagir com o material circundante, o pósitron interage com um elétron próximo, resultando na aniquilação de ambos, o que gera dois fótons gama de alta energia (511 keV cada) emitidos em direções opostas, a 180° (BLOKLAND et al., 2002).

### Generic Equation for $\beta^+$ Decay

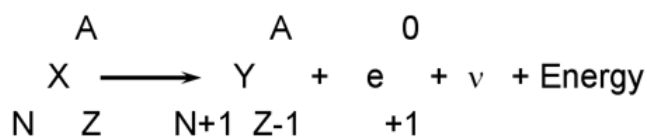


Figura 2: Esquema demonstrando decaimento por emissão de pósitrons. Fonte: Adaptado de Stephen M. Karesh, PhD

## 1.4 RADIONUCLÍDEOS EMISSORES DE PÓSITRONS

Os radionuclídeos emissores de pósitrons permitem a síntese de radiofármacos extremamente importantes do ponto de vista fisiológico, já que a maioria dos processos metabólicos podem ser traçados por radionuclídeos de meia-vida curta e de baixo número atômico. A detecção dos radionuclídeos emissores de pósitrons está baseada na detecção de fótons de aniquilação, resultantes da interação de um pósitron com um elétron (BLOKLAND et al., 2002).

Dependendo de suas propriedades bioquímicas, os radionuclídeos emissores de pósitrons podem ser divididos em dois grupos. Os primeiros são os radiomarcadores não específicos, que seguem uma via bioquímica e permitem a medição do metabolismo do tecido, como o  $H_2^{15}O$ , que é um marcador inerte livremente difusível usado para medição do fluxo sanguíneo cerebral;  $^{18}F$ -FDG (2-desoxi-2- $^{18}F$ -fluoro-D-glucose), que segue as fases iniciais do metabolismo da glicose, é fosforilado pela hexoquinase ficando, portanto, retido nas células, permitindo uma medição do metabolismo da glicose e tecidos; o  $^{18}F$ -fluoromisonidazole é uma droga biorredutora *in vivo*, que segue uma via de redução intracelular e pode ser utilizado para a medição de hipóxia tecidual, entre outros. O segundo grupo inclui radioligantes específicos envolvidos na interação com um receptor ou transportador específico, tal como,  $^{11}C$ -flumazenilo (um antagonista com grande afinidade e seletividade para os receptores centrais da benzodiazepina),  $^{68}Ga$ -DOTA-TOC (um análogo da somatostatina com grande afinidade e seletividade para os receptores de somatostatina em NET). Esses radiomarcadores são utilizados para estudar alterações na densidade e na afinidade dos receptores (BLOKLAND et al., 2002).

#### 1.4.1 Flúor-18

O flúor-18 é o radionuclídeo emissor de pósitron mais utilizado no mundo, e o único disponível comercialmente no Brasil. Produzido em ciclotron, possui uma meia-vida de 110 minutos, o que permite que seja distribuído comercialmente em regiões a algumas centenas de quilômetros do local de produção. O  $^{18}\text{F}$ -FDG é especialmente importante na detecção de tumores primários e metástases. A capacidade de realizar imagens do corpo inteiro de pacientes com câncer de alto risco de recorrência primária ou metastática é útil no diagnóstico e no estadiamento. Em resumo, o  $^{18}\text{F}$ -FDG proporciona uma melhor seleção de pacientes para terapias específicas, se o melhor tratamento para o paciente seria cirurgia, radioterapia ou quimioterapia. Também tem mostrado ser capaz de monitorar o efeito da terapia, o que tem implicações clínicas significativas (MCCREADY, V.R., 2000).

#### 1.4.2 Carbono-11

O monóxido de carbono marcado ( $^{11}\text{CO}$ ) fornece uma excelente metodologia para a marcação de células sanguíneas. O  $^{11}\text{CO}_2$  tem sido utilizado para estudar a função pulmonar (BLOKLAND et al., 2002). A  $^{11}\text{C}$ -metionina tem sido muito utilizado no diagnóstico de tumores cerebrais e suas metástases. Possui uma meia-vida bastante curta, de apenas 20 minutos (GLAUDEMANS et al., 2013).

#### 1.4.3 Nitrogênio-13

É especialmente utilizado como  $^{13}\text{N}$ -amônia para estudos de perfusão. Além disso, em oncologia, tem sido utilizado complexado a aminoácidos, como  $^{13}\text{N}$ -metionina, na



investigação do crescimento e viabilidade tumoral. Possui uma meia-vida extremamente curta, de apenas 10 minutos (BLOKLAND et al., 2002).

#### 1.4.4 Oxigênio-15

Oxigênio-15 ( $^{15}\text{O}$ ) é um marcador com grande potencial em Medicina Nuclear. A oxidação é um fenômeno fundamental na vida de organismos superiores, e a taxa de oxidação dos tecidos é um dos mais confiáveis índices metabólicos. O  $^{15}\text{O}$  pode ser usado como um marcador para o oxigênio, o monóxido de carbono, o dióxido de carbono e a água. A maior restrição ao uso desse radionuclídeo concentra-se em sua curtíssima meia-vida: apenas 2 minutos (BLOKLAND et al., 2002).

#### 1.4.5 Gálio-68

O Gálio-68 ( $^{68}\text{Ga}$ ), diferente de todos os radionuclídeos emissores de pósitrons apresentados até então, é produzido em gerador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , o que permite uma disponibilidade imediata do produto. O radionuclídeo pai ( $^{68}\text{Ge}$ ) possui uma meia-vida de 270,8 dias, o que garante uma vida útil ao gerador de até 12 meses (Fig. 3). Além disso, as propriedades químicas do Ge (IV) e Ga (III) são suficientemente diferentes para permitir que vários métodos diferentes de separação radioquímica possam ser empregados com alta eficiência. O  $^{68}\text{Ga}$  vem sendo estudado desde o final da década de 60 (HNATOWICH, D.J., 1977; GREEN & WELCH, 1989), possui propriedades físicas apropriadas e um elevado rendimento de pósitrons, atingindo 89% de todas as desintegrações, com uma energia de 1,899 MeV. Sua meia-vida de 68 minutos coincide com a farmacocinética de muitos

peptídeos e outras moléculas pequenas, tornando-o ideal para a marcação de tais moléculas (ANTUNES et al., 2007).

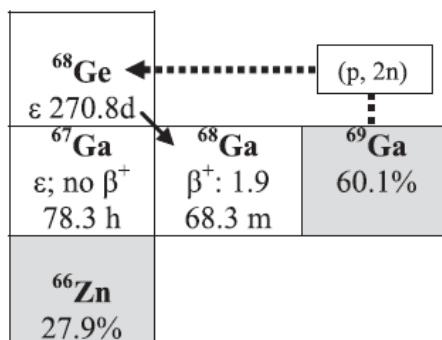


Figura 3: Esquema demonstrando esquema de produção do  $^{68}\text{Ge}$  e decaimento do  $^{68}\text{Ga}$ . Fonte: H.R. Maecke e, J.P. André.

### 1.5 GERADOR DE $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

O primeiro gerador de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  foi descrito em 1960 por Gleason, o qual era eluído através de uma extração de líquido-líquido.  $^{68}\text{Ga}$  é um dos mais antigos radionuclídeos emissores de pósitrons a ser utilizado em Medicina Nuclear, quando o gerador descrito por Gleason foi aperfeiçoado para utilização em humanos por Anger e Gottschalk, em 1963, muito antes do surgimento do  $^{18}\text{F}$ -FDG. Devido aos avanços simultâneos no desenvolvimento dos equipamentos PET, em meados de 1966, Gottschalk começou a aplicar o  $^{68}\text{Ga}$  clinicamente, inicialmente para estudos do sistema nervoso (ANGER & GOTTSCHALK, 1963; SCHAER, et al., 1965). Até o final de 1970, no entanto, o uso da imagem PET com  $^{68}\text{Ga}$  foi reduzido em favor de novos agentes, como  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  para tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT) e  $^{18}\text{F}$  para PET. Naquele momento, o  $^{68}\text{Ga}$  era obtido ligado ao ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), de forma que, para realizar a marcação com outro composto, seria necessário destruir o complexo inicial, o que tornava a

radiomarcção um processo bastante demorado, complexo e com baixo rendimento. Os geradores de  $^{68}\text{Ga}$  só voltaram a ser utilizados novamente a partir de 2005, com o desenvolvimento de geradores comerciais com eluição na forma de  $^{68}\text{Ga}^{+3}$  diluído em ácido clorídrico (RAZBASH et al., 2005).

O retorno às pesquisas com  $^{68}\text{Ga}$  deu-se por uma série de razões, dentre elas, o fato de a tecnologia PET ter sido muito desenvolvida durante a última década, convertendo-se em uma poderosa ferramenta diagnóstica. Em segundo lugar, existem muitos DOTA-peptídeos que podem ser marcados com  $^{68}\text{Ga}$ , além de uma variedade de quelantes monofuncionais e bifuncionais que foram desenvolvidos nos últimos anos, garantindo a formação de complexos estáveis do  $^{68}\text{Ga}^{+3}$  com biomoléculas de grande utilidade médica. Além disso, a disponibilidade de radiofármacos PET diretamente na radiofarmácia, independente de um ciclotron no local, abriu novas aplicações e possibilidades, tornando o  $^{68}\text{Ga}$  uma potencial alternativa a radionuclídeos como  $^{18}\text{F}$  e  $^{11}\text{C}$  (BREEMAN et al., 2011).

## 1.6 PLATAFORMA DOTA E DOTA-PEPTÍDEOS

Nos últimos anos, os análogos de somatostatina marcados com  $^{68}\text{Ga}$  ( $T_{1/2} = 68$  min) foram utilizados para imagem de NETs, bem como de outros tipos de tumores que expressam SSTRs. Uma das maiores vantagens do  $^{68}\text{Ga}$  é que este é produzido em gerador, e não é necessário que haja ciclotron próximo ao local. Nas imagens de NETs, o  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC, principalmente, tem sido utilizado e tem-se mostrado especialmente vantajoso para visualizar pequenos tumores, com baixa absorção de octreotídeo (MAECKE et al., 2005).

O  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC conduziu a uma melhoria dramática na sensibilidade e na especificidade na imagem de receptores de somatostatina em NETs. Agonistas da somatostatina têm sido amplamente utilizados com sucesso para o diagnóstico e

acompanhamento da terapia de tumores que expressam SSTRs (GABRIEL et al., 2007). Devido à sua maior eficiência na quantificação global e maior resolução espacial, o PET utilizando  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC é uma técnica de detecção bastante eficaz e vários estudos têm sido desenvolvidos a fim de iniciar uma nova era em imagem PET, já que o Gálio-68 pode ser obtido a partir de geradores de radionuclídeos. Dados recentes demonstram uma boa correlação entre a acumulação de  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC em receptores de somatostatina do tipo SSTR-2 no tecido humano normal e em tumores de origem neuroendócrina (BOY et al., 2011).

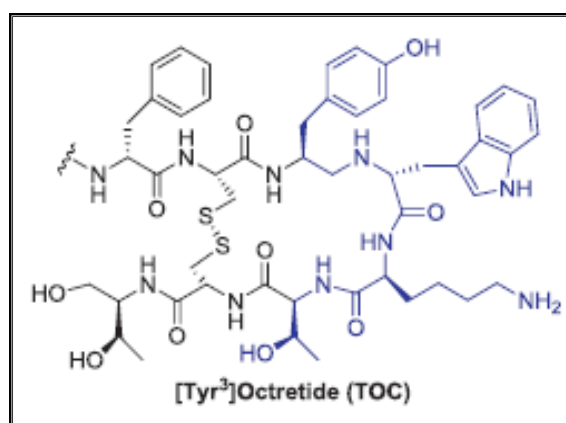


Figura 4. Estrutura do [Tyr<sup>3</sup>]Octreotide (TOC).  
Fonte: Adaptado de Banerjee & Pomper, 2013.

DOTA-TOC, um dos análogos de somatostatina, consiste de um octapeptídeo com ponte de dissulfeto, d-Phe(1)-Cys(2)-Tyr(3)-Trp-d-(4)-Lys(5)-Ter(6)-Cys(7)-Tre(8)-ol (Fig. 4), ligado ao quelante DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetra-acético) (Fig. 5) (DESHMUKH et al., 2005). É amplamente utilizado na Europa há mais de 10 anos para imagens de SSTRs em PET, quando marcado com Gálio-68 (Fig. 6).

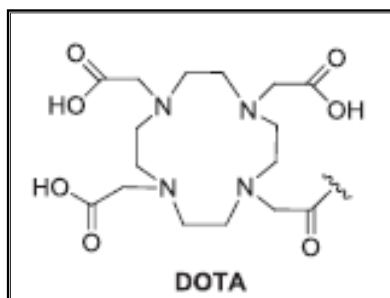


Figura 5. Estrutura do DOTA.  
Fonte: Adaptado de Banerjee & Pomper, 2013.

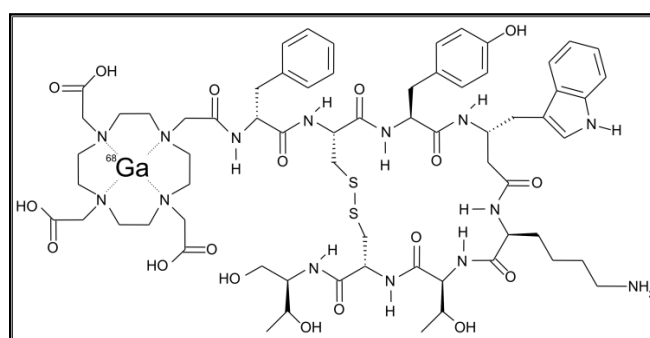


Figura 6. <sup>68</sup>Ga-DOTA-TOC. Fonte: Kübelbeck, A., 2008.

## 10 ANEXOS

## 10.1 EMBALAGEM FINAL DO PRODUTO DOTATOC



## 10.2 BULA DO PRODUTO DOTATOC



### LEIA COM ATENÇÃO ANTES DE USAR O PRODUTO.

#### MEDICAMENTO PARA USO DIAGNÓSTICO EM TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS (PET).

Este produto é para uso exclusivo em hospitais e clínicas especializadas.

#### 1. FORMA FARMACÉUTICA E APRESENTAÇÃO

Kit contendo 10 frascos para marcação com Gálio-68 em módulo de marcação IQS e gerador de <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga ITO. Todos os frascos são estéreis, apirrogênicos e sob atmosfera de nitrogênio.

#### ADMINISTRAÇÃO ENDOVENOSA, USO ADULTO E PEDIÁTRICO.

#### 2. COMPOSIÇÃO

Cada kit contém os seguintes produtos:

Composição	Quantidade
DOTA-Tyr3-octreotídeo	25 µg
acetato de sódio	21 mg
Frasco A	
etanol 70%	5,0 mL
Frasco C	
cloreto de sódio 0,9%	10,0 mL
Frasco D	
água ultra-purificada	1,05 mL
Frasco E	
etanol 30%	2,0 mL
Frasco F	
cloreto de sódio 0,9%	5,0 mL
Frasco G	
ácido clorídrico 0,05 M	4,05 mL
Frasco R	
cloreto de sódio 0,9%	5,0 mL
Frasco L	
Frasco vazio para produto marcado	-
Frasco W	
Frasco vazio para resíduos	-

Tabela 1 - Composição dos frascos do kit DOTATOC.

#### 3. CUIDADOS DE ARMAZENAMENTO

Data de fabricação e validade: vide embalagem  
Transportar sob refrigeração e ao abrigo da luz. O armazenamento deve ser para o FRASCO P, em temperatura de -18°C. Os demais frascos devem ser armazenados em temperatura ambiente.

Número de lote e data de fabricação e validade: vide embalagem.

Não use medicamento com o prazo de validade vencido.

Todo medicamento deve ser mantido fora do alcance de crianças.

Antes de administrar ao paciente, observe o aspecto do produto marcado, que deve ser limpo e incolor.

#### 4. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Durante a gravidez ou lactação, utilizar este radiofármaco somente em caso de extrema necessidade, quando os riscos de exposição do feto ou recém-nascido à radiação sejam justificáveis pela importância do diagnóstico.

A administração de um radiofármaco durante a gravidez pode ocasionar alterações mutagênicas no feto. No período de lactação, a amamentação deve ser interrompida, podendo ser reiniciada quando o nível de radiação no leite não resultar em uma dose de radiação para a criança maior que 1 mSv. Evitar o contato próximo entre a mãe e o bebê durante as 12 horas seguintes à administração do radiofármaco.

#### 5. CUIDADOS NA ADMINISTRAÇÃO

Este medicamento torna-se radioativo após a marcação com gálio-68. Cuidados, como o uso de blindagens, luvas e óculos adequados devem ser obrigatórios. Os conjuntos de reativos são estéreis e apirrogênicos. Para preservar a esterilidade do produto, deve-se manipular atendendo às Boas Práticas de Manipulação de produtos estéreis (produto endovenoso). Deve-se tomar cuidado com relação ao uso de radiais ionizantes. Assim, o decante de rejeitos radioativos (materiais utilizados, recipientes e demais resíduos) deve ser feito em local apropriado, seguindo as normas de radioproteção.

#### 6. CARACTERÍSTICAS FARMACODINÂMICAS E FARMACOCINÉTICAS

O radiofármaco DOTATOC-Ga-68 é um análogo da somatostatina, peptídeo multifuncional sintetizado pelo sistema neuroendócrino e por outras células presentes em diversos tecidos e órgãos. Os receptores de somatostatina são expressos por muitos tumores neuroendócrinos e também em órgãos como o fígado, bazo, glândula pituitária, tireoide e rins. Outros órgãos podem ser observados em consequência da excreção do radiofármaco, tais como bexiga e ureteres. É rapidamente eliminado da corrente sanguínea: 35% da atividade injetada permanece na corrente sanguínea em 10 minutos e somente 1% 20 horas após a administração. A eliminação é predominantemente através dos rins: aproximadamente 50% da atividade administrada é encontrada na urina em 6 horas e 85% dentro das primeiras 24 horas. A eliminação gastrointestinal representa somente 2% da atividade total injetada.

#### 7. INDICAÇÕES

O radiofármaco DOTATOC-Ga-68 é recomendado para diagnóstico por imagem de tumores que expressam receptores de somatostatina, especialmente os de origem neuroendócrina, em tomografia por emissão de pósitrons (PET). Pode ser utilizado na localização de tumores primários e metástases distantes para estadiamento, seguimento de pacientes com doença já diagnosticada (reestadiamento), selecionar pacientes para terapia radionuclídica de receptores de peptídeo (PRRT), entre outros.

#### 8. CONTRAINDICAÇÕES

Não existem contra-indicações relatadas.

#### 9. INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS

Alguns autores recomendam que seja descontinuada a administração com ocreotídeo "frio" (quando possível e não contraindicado) para evitar um possível bloqueio do receptor de somatostatina. O intervalo de tempo entre a interrupção de terapia e a administração de DOTATOC-Ga-68 depende do tipo de fármaco utilizado: 1 dia é sugerido para as moléculas de vida curta e de 3 a 4 semanas para análogos de ação prolongada. No entanto, essa questão ainda não está definitivamente esclarecida.

#### 10. POSOLOGIA E ADMINISTRAÇÃO

Via de administração: endovenosa.  
A atividade recomendada para cintilografia de processos tumorais em pacientes adultos com 70 Kg é de 100 a 200 MBq (2,7 a 5,4 mCi). Para pacientes pediátricos, a atividade deve ser ajustada de acordo com idade, peso e massa corporal. A atividade administrada pode variar de acordo com o equipamento.

o protocolo utilizado e a indicação do exame. Recomenda-se a administração de 0,04 mCi/kg.

#### AS ATIVIDADES ADMINISTRADAS EM CRIANÇAS E IDOSOS DEVEM SER CALCULADAS DE ACORDO COM A SUPERFÍCIE CORPORAL.

#### 11. SUPERDOSE

Quando administrada uma superdose de radiação com DOTATOC-Ga-68, a dose absorvida pelo paciente deve ser reduzida o quanto possível, com a ingestão de maiores quantidades de líquidos para eliminação do radionuclídeo do corpo através do aumento da frequência de micção.

**Em caso de intoxicação ligue para 0800 722 6001, se você precisar de mais orientações sobre como proceder.**

#### 12. REAÇÕES ADVERSAS

Não existem relatos até o momento.

#### 13. INSTRUÇÕES DE PREPARO E CONSERVAÇÃO APÓS COMPLEXAÇÃO

Usar normas de assepsia e precauções para evitar exposição à radiação. Sugerir-se realizar a marcação com acompanhamento do *check-list* de marcação.

13.1. Retirar o kit de reagentes do refrigerador e agitar até que atinja a temperatura ambiente.

13.2. Proceder com o condicionamento do cartucho da seguinte maneira:  
13.2.1. Coloque 5 ml de etanol 70% (FRASCO A) em uma seringa de 5 ml.

13.2.2. Conecte a seringa ao filtro de esterilização final e este ao cartucho.

13.2.3. Lave o cartucho com o etanol 70%, gota a gota, e injete ar (1 ml).

13.2.4. Retire o filtro e conecte-o ao sistema (agulha 70 mm de produto).

13.2.5. Com uma seringa de 10 ml, preencha-a com 10 ml de NaCl 0,9% (FRASCO C), conecte-a diretamente ao cartucho e lave-o com a solução, gota a gota.

13.2.6. Instale o cartucho no sistema de cassette (maxi-set).

13.3. Todas as válvulas do módulo IQS devem estar nas posições de início (Elute/Vent Waste).

13.4. Iniciar o aquecimento do módulo a 110°C, anexar cartucho C-18 (após condicionamento), agulhas 70 mm para o produto (com filtro, após condicionamento) e para resíduos e FRASCO L (produto) e FRASCO W (resíduos) no chumbo com a agulha de ventilação. A agulha de ventilação que será utilizada no FRASCO L (produto) necessita ter um filtro esteril pequeno acoplado. Feche as portas de chumbo e a tampa superior do módulo.

13.5. Preencha as seringas da seguinte maneira:

13.5.1. Seringa do gerador: Aspirar 4 ml de HCl 0,05 M (sem ar) do FRASCO G;

13.5.2. Seringa do peptídeo: DOTATOC (com ar) - Reconstituir o conteúdo do FRASCO P com 1 ml do conteúdo do FRASCO D;

13.5.3. Seringa do cartucho: Aspirar 5 ml de NaCl 0,9% do FRASCO R.

13.6. Após 10 min (depois que o aquecimento foi ligado), ecluir a seringa do peptídeo.

13.7. Enviar 5 ml de ar com a seringa de peptídeo, de quatro a seis vezes, ou até que a pressão na seringa diminua.

13.8. 5 min após o peptídeo ser enviado, ecluir a seringa do gerador (em cerca de 1 minuto, com pressão máxima de 2 bar).

13.9. 10 min após a ebulição do gerador, mudar a válvula "Load/Elite/Clean" para "Load" e a válvula "Vent/Close" para "Close" (Load/Clean/Waste).

13.10. Enviar 5 ml de ar com a seringa de peptídeo, de quatro a seis vezes, ou até que a pressão na seringa diminua.

13.11. Mudar a válvula "Load/Elite/Clean" para "Clean" e a válvula "Vent/Close" para "Vent" (Clean/Vent/Waste).

13.12. Ecluir seringa do cartucho e enviar 5 ml de ar, de quatro a seis vezes, ou até que a pressão na seringa diminua.

13.13. Mudar a válvula "Load/Elite/Clean" para "Load" e a válvula "Vent/Close" para "Vent" (Load/Elite/Clean/Waste).

13.14. Enviar 5 ml de ar com a seringa de peptídeo, de quatro a seis vezes, ou até que a pressão na seringa diminua.

13.15. Mudar a válvula "Product/Waste" para "Product", a válvula "Load/Elite/Clean" para "Elite" e a válvula "Vent/Close" para "Vent" (Elite/Vent/Product).

13.16. Preencher a seringa do cartucho com 2 ml EtOH 30% do FRASCO E, ecluir de ar e ecluir.

13.17. Enviar 5 ml de ar com a seringa do cartucho, de quatro a seis vezes, ou até que a pressão na seringa diminua.

13.18. Preencher a seringa do cartucho com 5 ml de NaCl 0,9% do FRASCO R, ecluir de ar e ecluir.

13.19. Enviar 5 ml de ar com a seringa do cartucho, de quatro a seis vezes, ou até que a pressão na seringa diminua.

13.20. Desligar aquecimento e proceder com medições de atividade obtida no FRASCO L e no FRASCO W.

**14. CONTROLE DE QUALIDADE- RADIOQUÍMICO**

Utilizar uma placa de sílica gel 60 de 6,5 centímetros de comprimento e 1,0 centímetros de largura, como ilustrado na figura 1. Após procedimento de marcação, adicionar de duas a três gotas do material na linha de aplicação da placa. Colocar a placa em uma cuba cromatográfica com tampa contendo citrato de sódio 0,5 M. Aguardar para que o solvente migre até a linha superior da placa. Retirar a placa da cuba cromatográfica. Cortar a placa pela metade. Calcular a pureza radioquímica conforme a fórmula a seguir. Analisar os resultados de rendimento de marcação conforme a tabela 2.

OBS: A solução de citrato de sódio 0,5 M deve ser preparada com água destilada.

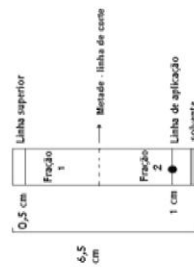


Figura 1

Pureza Radioquímica (%) =

$$\% \text{ } ^{68}\text{Ga-DOTATOC} = \frac{\text{ativ. Fração 2}}{\text{ativ. Fração 1+2}} \times 100 \geq 95\%$$

A pureza radioquímica deve ser igual ou superior a 95%.

ANÁLISE CROMATOGRAFICA DO DOTATOC-Ga-68		
SISTEMA CROMATOGRAFICO		ESPECIES DE Ga-68
Fase estacionaria	Fase móvel	Origem
Silica gel 60	Citrato de sódio 0,5 M	DOTATOC-Ga-68
		<sup>68</sup> GaCl <sub>3</sub>

Tabela 2 - Sistemas cromatográficos para controle radioquímico do DOTATOC-Ga-68.

**15. MARCAÇÃO DE QUALIDADE - RENDIMENTO DE MARCAÇÃO**

15.1. Medir, no curiômetro, a atividade obtida no FRASCO L (produto) e anotar atividade e horário de medição.

15.2. Medir, no curiômetro, a atividade obtida no FRASCO W (resíduo) e anotar atividade e horário de medição.

15.3. Medir, no curiômetro, a atividade retida no cartucho e anotar atividade e horário de medição.

15.4. Realizar o cálculo:

$$\% \text{ Rendimento} = \frac{(\text{FRASCO L})}{(\text{FRASCO L} + \text{FRASCO W} + \text{CARTUCHO})} \times 100$$

O rendimento de marcação deve ser igual ou superior a 80%.

**16. CONTROLE DE QUALIDADE- pH**

Aplicar uma amostra do radiofarmaco sobre o papel indicador da fita de pH. Aguardar 30 segundos e comparar a cor adquirida pela fita com os parâmetros constantes na caixa de teste. A faixa de pH para o radiofarmaco DOTATOC-Ga-68 deve ser entre 4,0 - 8,0.

**17. TESTES DE TOXICIDADE**

A toxicidade não é problema quando se considera a elaboração e desenvolvimento de radiofarmacos, devido à quantidade utilizada não induzir resposta farmacológica.

**18. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO GÁLIO-68**

O gálio-68 é formado a partir do germânio-68 em um sistema de gerador (equilíbrio secular). O gálio-68 decai, através de emissão de pósitrons (89%) a zinco-68. Possui uma meia-vida física de aproximadamente 68 minutos e energia beta média de 1,899 MeV.



**19. DOSIMETRIA**

A dose absorvida por um paciente de 70 Kg para a administração de DOTATOC-Ga-68 é observada na tabela 3.

Órgão	mCy/MBq
Rins	0,082±0,020
Fígado	0,041±0,014
Vesícula biliar	0,015±0,001
Baço	0,108±0,065
Adrenais	0,077±0,028
Pulmões	0,007±0,001
Bexiga	0,119±0,058
Medula óssea	0,016±0,003
Corpo total	0,014±0,002
Dose efetiva	0,021±0,003 mSv/MBq

Tabela 3 - Dosimetria para administração de DOTATOC-Ga-68.

Fonte: Sundström, M. et al, 2013.

**20. RADIAÇÃO EXTERNA**

A atenuação resultante da interposição de várias espessuras de chumbo para radiofarmacos emissores de pósitrons está descrita na tabela 4.

ESPESSURA DA BLINDAGEM DE CHUMBO (mm)	COEFICIENTE DE ATENUAÇÃO
4,0	0,50
8,0	0,25
13,0	0,10
26,0	0,01
39,0	0,001
52,0	0,0001

Tabela 4 - Atenuação da radiação através da blindagem de chumbo (Pb).

**FARMACÊUTICO RESPONSÁVEL**

Frederico P. Lamachia F.  
CRF/RS: 11864



Avenida Ipiranga, 6681 - Prédio 93 - Sala 101  
TECNOPTUC - Porto Alegre - RS - 90619-900

FABRICADO E DISTRIBUÍDO POR  
MIM PRODUTOS FARMACÊUTICOS E DE RADIOPROTEÇÃO LTDA  
CNPJ: 04.891.262/0001-44

**SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR**

Telefone/Fax: (51) 3336.7134



Proibida a venda ao comércio.



10.3DECLARAÇÃO DA EMPRESA GRUPO RPH ATESTANDO O  
LANÇAMENTO DO PRODUTO NO MERCADO NACIONAL

Porto Alegre, 30 de janeiro de 2015.

## DECLARAÇÃO

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Farmacêutica -

Mestrado Profissional

A/C Prof Dr. Fernanda Bueno Morrone

Patrícia Machado Nabinger, funcionária do Grupo RPH, desenvolveu o projeto de pesquisa denominado "DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO DE UM KIT LIOFILIZADO DE DOTA-TOC PARA MARCAÇÃO COM GÁLIO-68 PARA DIAGNÓSTICO EM TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS", conjuntamente com a Empresa, nos anos de 2013 e 2014.

A realização do projeto resultou em um novo produto desenvolvido pelo Grupo RPH, denominado **DOTATOC**, o qual já está sendo comercializado em todo o Território Nacional. Todavia por questões de sigilo industrial os resultados obtidos com o projeto não devem ser divulgados.



Giovane Zanardo dos Santos / Rafael Viana de Oliveira

Representantes Legais