

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Avaliação de Sistemas Cromatográficos no Controle de Qualidade Radioquímico de
Fitato de Sódio (^{99m}Tc).**

Vicenzo San Felipe Couri

São Paulo
2024

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Avaliação de Sistemas Cromatográficos no Controle de Qualidade Radioquímico de
Fitato de Sódio (^{99m}Tc).**

Vicenzo San Felipe Couri

Monografia apresentada como Trabalho de Conclusão de Curso para obtenção do título de Bacharel em Farmácia e Bioquímica, pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Orientadora: Dra. Margareth Mie Nakamura Matsuda.

São Paulo
2024

“Foi um trabalho muito duro, e eles não caçaram naquele dia.”

Arthur C. Clarke

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
1.1. Radiofármacos	7
1.2. Radiofármacos de tecnécio (^{99m}Tc)	7
1.3. Gerador de ^{99m}Tc	8
1.4. Componentes para marcação	9
1.5. Controle de qualidade de radiofármacos	10
1.5.1. Controle do componente para marcação	10
1.5.2. Controle do eluato do gerador de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$	10
1.5.3. Controle radioquímico do radiofármaco	11
1.6. Cromatografia planar	12
1.6.1. Tensoativos em cromatografia planar	15
1.6.2. Glicerol como fase móvel	17
1.7. Fitato de sódio (^{99m}Tc)	17
1.8. Determinação colorimétrica de fitato	19
2. OBJETIVOS	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1. Determinação da atividade radioativa	21
3.2. Determinação do fator de retardamento e do perfil cromatográfico	21
3.3. Marcação do radiofármaco	22
3.4. Preparo de $^{99m}\text{TcO}_2$ e $^{99m}\text{TcO}_4^-$	22
3.5. Revelação de fitato de sódio (^{99m}Tc) por borrifamento com tiocianato de ferro	23
3.6. Consulta bibliográfica	23
3.7. Sistemas cromatográficos	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1. Fitato de sódio (^{99m}Tc) em sistema cromatográfico com solução de SDS como fase móvel	27
4.2. Fitato de sódio (^{99m}Tc) em sistemas com solução de SDS e NaCl 0,9% como fase móvel	30
4.3. Fitato de sódio (^{99m}Tc) em sistemas com solução de glicerol como fase móvel	31
4.4. Fitato de sódio (^{99m}Tc) em sistemas com solução de SDS e glicerol como fase móvel	33
4.5. $^{99m}\text{TcO}_2$ e $^{99m}\text{TcO}_4^-$	36
4.6. Determinação da pureza radioquímica de fitato de sódio (^{99m}Tc)	40
4.7. Avaliação colorimétrica	41
5. CONCLUSÃO	42
Referências	43

LISTA DE ABREVIATURAS

^{103}Ru	Rutênio; isótopo 103
^{131}I	Iodo; isótopo 131
^{235}U	Urânio; isótopo 235
^{89}Sr	Estrôncio; isótopo 89
^{90}Sr	Estrôncio; isótopo 90
^{99}Mo	Molibdênio; isótopo 99
^{99}Tc	Tecnécio; isótopo 99
$^{99}\text{MoO}_4^{2-}$	Íon molibdato (^{99}Mo)
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	Tecnécio; isótopo 99 metaestável
$^{99\text{m}}\text{TcO}_2$	Dióxido de tecnécio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$)
$^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$	Íon pertecnetato ($^{99\text{m}}\text{Tc}$)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Al_2O_3	Alumina
Al^{3+}	Íon alumínio
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCDAE	Cromatografia em camada delgada de alta eficiência
CCDI	Cromatografia em camada delgada instantânea
CMC	Concentração micelar crítica
CP	Cromatografia em papel
CaCl_2	Cloreto de cálcio
Ci	Curie
DCB	Denominação Comum Brasileira
Fe^{3+}	Íon férrico
HAc	Ácido acético
KSCN	Tiocianato de potássio
MEC	Metil-etil-cetona
NaCl	Cloreto de sódio
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SG	Sílica-gel
Sn^{2+}	Íon estanoso
$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Cloreto estanoso dihidratado
keV	Quilo elétron-volt

RESUMO

COURI, V.S.F. **Avaliação de Sistemas Cromatográficos no Controle de Qualidade Radioquímico de Fitato de Sódio (^{99m}Tc)**. 2024. no. 48. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia e Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

Palavras-chave: Fitato de sódio (^{99m}Tc); Radiofarmácia; Controle de Qualidade.

INTRODUÇÃO: Radiofármacos são medicamentos com finalidade diagnóstica ou terapêutica que, quando prontos para o uso, contém um ou mais radionuclídeos. A preparação dos radiofármacos envolve a marcação de moléculas não radioativas com um radioisótopo de interesse. ^{99m}Tc é o radionuclídeo mais utilizado nos procedimentos, representando 80% das aplicações devido às suas propriedades físicas e químicas ideais. O controle de qualidade do radiofármaco é fundamental, garantindo segurança e eficácia, e inclui a pureza radioquímica, radionuclídica, química, entre outros. Impurezas radioquímicas formadas durante a marcação, como $^{99m}\text{TcO}_4^-$ e $^{99m}\text{TcO}_2$, comprometem a qualidade das imagens de cintilografia. Métodos de cromatografia planar (CP) são amplamente utilizados para avaliar a pureza radioquímica, separando as espécies radioquímicas com base na interação com a fase estacionária e móvel. Dentre os radiofármacos disponíveis comercialmente, o fitato de sódio (^{99m}Tc) não conta com sistema cromatográfico para a determinação de $^{99m}\text{TcO}_2$. A necessidade de quantificar a impureza radioquímica na preparação de fitato de sódio (^{99m}Tc) abre caminho para a busca de novos sistemas cromatográficos. **OBJETIVO:** Avaliar sistemas cromatográficos e propor uma alternativa para a quantificação de $^{99m}\text{TcO}_2$ na preparação de fitato de sódio (^{99m}Tc). **MATERIAIS E MÉTODOS:** Os ensaios foram realizados em cromatografia em camada delgada e papel, com soluções do tensoativo dodecil sulfato de sódio e modificantes como glicerol e cloreto de sódio. O fitato de sódio (^{99m}Tc) e as espécies radioquímicas $^{99m}\text{TcO}_4^-$ e $^{99m}\text{TcO}_2$ foram preparados imediatamente antes dos ensaios e semeadas na fita cromatográfica para desenvolvimento de 10 cm de percurso cromatográfico. Ao fim da corrida, as fitas foram cortadas em segmentos de 1 cm, que tiveram suas atividades determinadas em contador gama automático. **RESULTADOS:** Sistemas cromatográficos de papel W1 desenvolvidos com SDS 0,04M contendo glicerol a 5% e W3MM com SDS 0,03M e 0,04M em meio contendo glicerol a 5% apresentaram 99,3%, 99,3% e 99,2% de separação de fitato de sódio (^{99m}Tc) e $^{99m}\text{TcO}_2$, respectivamente. A pureza radioquímica do radiofármaco, obtida com sistemas para $^{99m}\text{TcO}_4^-$ e $^{99m}\text{TcO}_2$, foi superior a 99%. **CONCLUSÃO:** O estudo introduziu a separação inédita por CP entre $^{99m}\text{TcO}_2$ e fitato de sódio (^{99m}Tc), por meio do uso de soluções de SDS e glicerol nos ensaios de pureza radioquímica de radiofármacos.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Radiofármacos

Radiofármacos são medicamentos com finalidade diagnóstica ou terapêutica que, quando prontos para o uso, contém um ou mais radionuclídeos, compreendendo, também, os componentes não-radioativos para marcação e os precursores radiofarmacêuticos, incluindo os extraídos de geradores de radionuclídeos (ANVISA, 2022). Por meio das estruturas químicas de moléculas, ou da natureza química do próprio elemento e suas diferentes espécies, são capazes de evidenciar aspectos fisiológicos e patológicos através da obtenção de imagens, para diagnóstico, e fornecer alternativas terapêuticas (SAHA, 2018).

A escolha do radionuclídeo depende da natureza de seu decaimento radioativo. Enquanto os emissores de radiação corpuscular, α , β^- e Elétrons Auger são empregados na rotina de radioterapia, devido à deposição localizada de sua dose, emissores de radiação eletromagnética γ e β^+ , este por meio da aniquilação de pares, são utilizados na obtenção das imagens, uma vez que o fóton emitido é capaz de penetrar os tecidos e atingir detectores especializados, externos ao corpo do paciente.

Com objetivo de direcionar o radionuclídeo a um alvo específico, produzindo imagens com resolução adequada e poupando os demais tecidos ou direcionando a dose recebida pelo paciente, é realizada a marcação de moléculas não radioativas, dotadas de dinâmica *in vivo*, com o emissor de interesse (ZOLLE, 2007; SAHA, 2018), sem que ocorra efeito fisiológico ao paciente (SAHA, 2018).

1.2. Radiofármacos de tecnécio (^{99m}Tc)

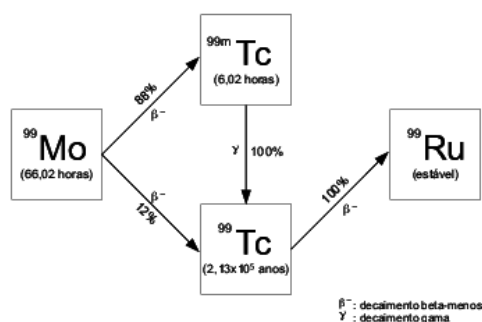
Entre os procedimentos realizados em medicina nuclear, 90% são relativos à obtenção de imagens para fins diagnósticos. Preparações radiofarmacêuticas formuladas a partir de ^{99m}Tc contemplam 80% dos ensaios realizados na medicina nuclear (PAYOLLA, 2019). As propriedades nucleares do radioisótopo o tornam ideal para a aplicação; meia-vida física de 6 horas e emissão de um único fóton de 140 keV (ZOLLE, 2007; MARQUES, 2001). A natureza química versátil do elemento permite a ampla aplicação do radioisótopo em diversos procedimentos diagnósticos, uma vez que é capaz de se associar a diferentes moléculas (MARQUES, 2001).

1.3. Gerador de ^{99m}Tc

O uso rotineiro de isótopos com curto tempo de meia-vida física é favorecido pelo uso de sistemas geradores de radioisótopos, que atuam como fonte prática e conveniente desses núclídeos, dispensando a aquisição comercial contínua do núclídeo de interesse (ZOLLE, 2007). Os dispositivos são descritos como sistemas que incorporam um radionuclídeo-pai que, por decaimento, produz um radionuclídeo-filho, que pode ser removido por eluição ou por algum outro método, com o objetivo de ser utilizado como parte integrante de um radiofármaco (ANVISA, 2022). Algumas sequências de decaimento radioativo são capazes de atingir um estado de equilíbrio entre os núclídeos pai e filho, permitindo a confecção desses sistemas (ZOLLE, 2007). Dos geradores, os mais amplamente utilizados são os preparados a partir de ^{99}Mo , para obtenção de ^{99m}Tc (SAHA, 2018; ZOLLE, 2007; MARQUES, 2001; BRAMBILLA, 2009).

^{99}Mo pode ser obtido por diferentes processos. A forma mais comum é a produção do radioisótopo como produto da fissão de urânio isotopicamente enriquecido em ^{235}U , irradiado com nêutrons, em reatores nucleares apropriados para a finalidade (ZOLLE, 2007). A **Figura 1** relata a sequência do decaimento do radioisótopo:

Figura 1 - Decaimento radioativo do ^{99}Mo .

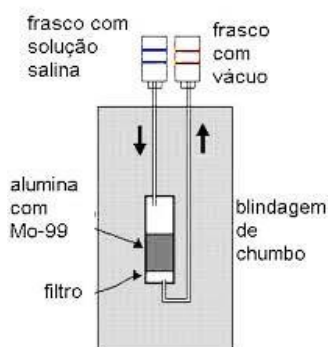


Fonte: Loch (2015)

O sistema gerador de ^{99m}Tc consiste na impregnação de molibdato, $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$, sobre uma coluna cromatográfica de alumina, Al_2O_3 , da qual o ^{99m}Tc proveniente de seu decaimento pode ser eluído por meio de uma solução adequada, na forma de pertecnetato, $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (ZOLLE, 2007; MARQUES, 2001).

Para a obtenção do eluato na forma de solução injetável de grau farmacêutico, é realizada a lavagem da coluna de alumina com solução fisiológica de cloreto de sódio (NaCl 0,9%), estéril, por meio de um sistema que permita a coleta da solução em um recipiente selado a vácuo. Ao atravessar a coluna, a solução carrega $^{99m}\text{TcO}_4^-$ por meio de troca iônica (ZOLLE, 2007; MARQUES, 2001). O processo de eluição está representado na **Figura 2**:

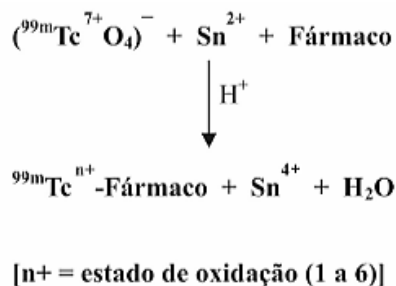
Figura 2 - Esquema do sistema gerador de ^{99}Mo / ^{99m}Tc .



Fonte: Ribeiro (2008)

Uma vez obtido o eluato de $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, pode ser realizada a marcação da molécula de interesse com a atividade desejada do radioisótopo, a fim de constituir o radiofármaco. Para que ocorra reação, o ^{99m}Tc presente deve ser reduzido de seu estado mais oxidado (7+) para estados de oxidação inferiores, por meio de agentes redutores, de forma a possibilitar a reação (ZOLLE, 2007; SAHA, 2018). A **Figura 3** esquematiza o processo de marcação:

Figura 3 - Esquema da marcação com ^{99m}Tc .



Fonte: Marques (2001)

1.4. Componentes para marcação

De forma a tornar a obtenção de radiofármacos prontos para uso mais dinâmica e eficiente, a marcação pode ser realizada através do uso de componentes para marcação, não radioativos, que são reconstituídos com o radionuclídeo para a obtenção do radiofármaco final, para

administração ao paciente. Nas formulações, os Insumos Farmacêuticos Ativos (IFAs) são componentes destinados a carregar ou ligar o radionuclídeo ou permitir sua ligação. Qualquer IFA e excipiente presente na formulação de um componente para marcação deve estar contemplado na lista da Denominação Comum Brasileira (DCB) (ANVISA, 2022). Formulações destinadas à marcação com ^{99m}Tc contam com o cloreto estanoso (Sn^{2+}) como agente redutor mais tradicional (ZOLLE, 2007, IAEA, 2008).

1.5. Controle de qualidade de radiofármacos

A fim de atender aos requisitos mínimos de segurança e eficácia, devem ser realizados ensaios de controle de qualidade dos componentes não radioativos, precursores radiofarmacêuticos e radiofármacos prontos para uso (ANVISA, 2022).

1.5.1. Controle do componente para marcação

A unidade produtora do radiofármaco deve possuir laboratório de controle de qualidade próprio, devidamente equipado para realizar os ensaios necessários para a liberação do produto e deve seguir integralmente a monografia farmacopeica. Na ausência da monografia farmacopeica, a metodologia deve ser fundamentada em literatura científica (ANVISA, 2022).

1.5.2. Controle do eluato do gerador de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$

Na solução injetável de pertecnetato de sódio, obtida por meio de separação em coluna de alumina, além dos parâmetros de esterilidade e apirogenicidade, descritos na monografia (ANVISA, 2019), o texto farmacopeico também determina os requisitos de pureza química, radioquímica e radionuclídica do eluato. Enquanto os ensaios de pureza química estabelecem o limite de alumínio (Al^{3+}) presente e o pH da solução, a pureza radioquímica contempla a forma química na qual o isótopo ^{99m}Tc se encontra, que deve ser ao menos 95% como íon pertecnetato. A pureza radionuclídica, por sua vez, determina os limites de radioisótopos de outros elementos potencialmente presentes na solução (ZOLLE, 2007; IAEA, 2008; IAEA, 2009). Os limites dos ensaios estão relatados na **Tabela 1**:

Tabela 1 - Valores dos ensaios descritos em monografia.

Ensaio	Valores	
Pureza Química	Al ³⁺	≤ 5 ppm
	pH	4,0 - 8,0
Pureza Radioquímica	^{99m} TcO ₄ ⁻	≥ 95%
Pureza Radionuclídica*	⁹⁹ Mo	≤ 0,15 µCi / mCi
	¹³¹ I	≤ 0,05 µCi / mCi
	¹⁰³ Ru	≤ 0,05 µCi / mCi
	⁸⁹ Sr	≤ 0,6 nCi / mCi
	⁹⁰ Sr	≤ 0,06 nCi / mCi
	Outras	≤ 1 nCi / mCi

*Concentração de atividade em mCi de ^{99m}Tc.

Fonte: Anvisa, 2019.

1.5.3. Controle radioquímico do radiofármaco

A pureza radioquímica de um radiofármaco é a razão da radioatividade do radionuclídeo de interesse no seu estado químico indicado, em relação à radioatividade total da preparação radiofarmacêutica (ANVISA, 2022). Impurezas radioquímicas se referem às formas químicas do radioisótopo não ligado ao radiofármaco, podendo surgir na preparação devido a diversos fatores, como exposição à luz, temperatura, pH, ação de solventes, radiólise e presença de agentes redutores ou oxidantes (SRIVASTAVA, 1977).

Durante a reação de marcação de radiofármacos marcados com ^{99m}Tc, duas impurezas radioquímicas são formadas (ZOLLE, 2007; SRIVASTAVA, 1977):

- Pertecnetato livre: espécie química de ^{99m}Tc que não sofreu reação, permanecendo livre na solução final como ^{99m}TcO₄⁻.
- Tecnécio coloidal (^{99m}TcO₂): espécie reduzida e insolúvel do elemento, formada pela hidrólise promovida pela forma tetravalente de ^{99m}Tc.

Baixos valores de pureza radioquímica são críticos para a qualidade do procedimento, levando a problemas na distribuição do radiofármaco. Como consequência, pode haver redução da

qualidade e surgimento de artefatos na imagem, diagnósticos imprecisos e exposição de outros tecidos à radiação (DECRISTOFORO, 2000; KROHN, 1976).

Na rotina da medicina nuclear, os componentes não-radioativos são reconstituídos imediatamente antes da administração ao paciente. Dessa forma, os ensaios de controle de qualidade para a determinação da pureza radioquímica permanecem sob a responsabilidade do serviço de radiofarmácia. O parâmetro é essencial para a dispensação do radiofármaco e sua administração ao paciente (DECRISTOFORO, 2000). Os valores mínimos de pureza radioquímica estabelecidos variam de acordo com a preparação radiofarmacêutica, com pelo menos 90% de pureza.

1.6. Cromatografia planar

Diversos métodos analíticos podem ser empregados na determinação das impurezas radioquímicas, como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), eletroforese, colunas de troca iônica e extração por solvente. O método mais aplicado na rotina da medicina nuclear é a cromatografia planar, devido à sua praticidade e rápida execução (KROHN, 1976; ZOLLE, 2007).

A modalidade explora a separação de compostos por meio das diferentes afinidades às fases estacionárias e móveis empregadas em um sistema cromatográfico. Compostos com maior afinidade à fase estacionária permanecem retidos durante o percurso, migrando lentamente durante a corrida cromatográfica, ao passo que, aqueles com maior afinidade à fase móvel migram junto ao frente do solvente. O desenvolvimento da cromatografia se dá por meio da capilaridade da fase móvel, de forma ascendente (DEINSTROP, 2007).

Nos ensaios em cromatografia planar, cada analito é caracterizado por um Fator de Retardamento (R_f), definido pela relação entre a distância percorrida pelo frente do solvente e a distância percorrida pela espécie química, consequência das diferentes partições entre a fase móvel e estacionária. A **Equação 1** define o Fator de Retardamento:

$$R_f = \frac{D_e}{D_s} \quad (1)$$

D_e e D_s tratam das distâncias percorridas pelo analito e pelo fronte do solvente, respectivamente. O valor de R_f , portanto, depende da dinâmica entre fase estacionária, fase móvel e analito (DEINSTROP, 2007).

Para a quantificação da pureza radioquímica (%PRq) de radiofármacos de ^{99m}Tc , a **Equação 2** permite chegar ao seu valor indiretamente, uma vez quantificadas as impurezas presentes:

$$\%PRq = 100 - (\%^{99m}\text{TcO}_2 + \%^{99m}\text{TcO}_4^-) \quad (2)$$

As parcelas de atividade relativas de $^{99m}\text{TcO}_2$ e $^{99m}\text{TcO}_4^-$, $\%^{99m}\text{TcO}_2$ e $\%^{99m}\text{TcO}_4^-$, respectivamente, são expressas pela **Equações 3 e 4**:

$$\%^{99m}\text{TcO}_2 = \frac{A_{^{99m}\text{TcO}_2}}{A_{\text{total}}} \cdot 100 \quad (3)$$

$$\%^{99m}\text{TcO}_4^- = \frac{A_{^{99m}\text{TcO}_4^-}}{A_{\text{total}}} \cdot 100 \quad (4)$$

Onde $A_{^{99m}\text{TcO}_2}$ trata da atividade de tecnécio reduzido, no R_f correspondente ao da espécie no sistema de escolha, e $A_{^{99m}\text{TcO}_4^-}$ trata da atividade de tecnécio livre, no R_f correspondente ao da espécie no sistema de escolha (LASKARIS, 1984).

Diversas modalidades de cromatografia planar foram desenvolvidas, sendo os principais a cromatografia em camada delgada (CCD) e a cromatografia em papel (CP). As modalidades diferem quanto ao mecanismo de separação dos analitos. Enquanto em CCD, a separação depende da adsorção de compostos às moléculas presentes na fase estacionária, em CP, a separação ocorre pela diferença de solubilidade dos compostos no solvente empregado como fase móvel (POOLE, 2000).

A CCD conta com grande variedade de adsorventes disponíveis comercialmente, entre eles, sílica-gel (SG), celulose e alumina (Al_2O_3). Em suportes cromatográficos, os adsorventes secos são depositados em uma fina camada sobre base de alumínio, polímero ou vidro.

Apesar de a modalidade possuir maior praticidade, quando comparada à CLAE, apresenta resolução inferior. Sistemas de cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE) foram desenvolvidos como alternativa com resolução de separação comparável à CLAE. O aprimoramento da eficiência é resultado de tamanhos de partícula de adsorventes menores (5 - 6 μm), quando comparados à CCD tradicional (10 - 12 μm). Como consequência, o ensaio demanda menores volumes de amostra.

Como alternativa para ensaios mais rápidos, foi desenvolvida a cromatografia em camada delgada instantânea (CCDI), composta de fibra de vidro impregnada com sílica-gel, que permite a migração da fase móvel de forma mais rápida.

A CP conta com diferentes propriedades quanto à sua espessura. Enquanto o papel Whatman 1 Chr (W1) possui 0,18 mm de espessura, papel Whatman 3MM Chr (W3MM) conta com 0,34 mm, levando a maior absorção da amostra aplicada e maior resistência mecânica. O fluxo da fase móvel pouco difere entre os papéis cromatográficos. O papel cromatográfico Whatman 31ET (W31ET) conta com espessura de 0,50 mm, levando a maior absorção da amostra aplicada e fluxo mais veloz da fase móvel ao longo da cromatografia, quando comparado aos W1 e W3MM.

Como fase móvel, pode ser empregado virtualmente qualquer solvente ou solução. No entanto, deve-se levar em consideração diversas propriedades da fase móvel, de forma a atingir melhor separação dos analitos. A polaridade da fase móvel é essencial para definir a capacidade de separação, uma vez que as interações intermoleculares entre analito, fase estacionária e fase móvel ditam a dinâmica entre os três, resultando em um R_f específico. A viscosidade e densidade da fase móvel também devem ser avaliadas, uma vez que valores elevados desses parâmetros promovem maior dificuldade de migração, levando a um maior tempo de análise (MONTEIRO, 2012). As fases móveis também devem apresentar caráter inerte diante dos analitos, de forma a não promover reações com os compostos analisados (KROHN, 1976).

Das fases estacionárias mais utilizadas na rotina de controle radioquímico, podem ser citadas CCDI-SG, CCD-SG, W1 e W3MM. É comum o emprego de acetona, metanol 85%, metil-etil-cetona (MEC) e NaCl 0,9% como fase móvel nos sistemas cromatográficos. A **Tabela 2** relata o R_f das impurezas nesses sistemas:

Tabela 2 - Valores de R_f das impurezas $^{99m}\text{TcO}_4^-$ e $^{99m}\text{TcO}_2$.

Fase Móvel	Impureza	CCDI-SG	CCD-SG	W1	W3MM
		R_f			
Acetona	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1	0,0 - 0,1	0,0 - 0,1	0,0 - 0,1
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,8 - 1,0	0,7 - 1,0	0,6 - 0,9	0,6 - 0,9
Metanol 85%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1	0,0 - 0,1	0,0 - 0,1	0,0 - 0,1
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,7 - 1,0	0,6 - 0,9	0,3 - 0,6	0,3 - 0,7
Metil-etil-cetona	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1	0,0 - 0,1	0,0 - 0,1	0,0 - 0,1
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,8 - 1,0	0,8 - 1,0	0,7 - 0,9	0,8 - 1,0
NaCl 0,9%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1	0,0 - 0,1	0,0 - 0,1	0,0 - 0,1
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,8 - 1,0	0,8 - 1,0	0,6 - 0,8	0,6 - 0,9

Fonte: Monteiro (2012); Mallol (1997).

Por diversas vezes, se faz necessário o uso de dois sistemas cromatográficos simultâneos para que a pureza radioquímica seja avaliada, uma vez que não é possível a separação de $^{99m}\text{TcO}_2$, $^{99m}\text{TcO}_4^-$ e do radiofármaco em um único sistema, já que o R_f do radiofármaco e o de uma das impurezas se encontram sobrepostos, tornando inviável a quantificação das espécies individualmente (KROHN, 1976).

1.6.1. Tensoativos em cromatografia planar

Além das soluções e solventes orgânicos tradicionalmente utilizados como fase móvel nas análises por cromatografia planar, podem ser utilizadas soluções preparadas a partir de tensoativos (ÁNGEL, 2009).

Os compostos, dotados de natureza anfifílica, com uma parte de sua estrutura exibindo comportamento hidrofílico e a outra, comportamento hidrofóbico, podem ser classificados em três categorias:

- Aniônicos: porção hidrofílica dotada de carga formal negativa;
- Catiônicos: porção hidrofílica dotada de carga formal positiva;
- Neutros: porção hidrofílica isenta de carga formal.

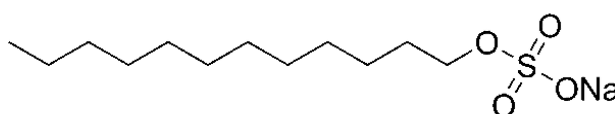
Em solução, os compostos apresentam comportamentos diferentes, a depender da concentração. A concentração micelar crítica (CMC) define o limiar de concentração do tensoativo para que ocorra a transição da presença de monômeros em solução para estruturas aglomeradas, definidas como micelas (HOLMBERG, 2002; RUIZ, 2008), devido à termodinâmica favorável em manter as porções hidrofílicas em contato com a água, enquanto a porção apolar permanece isolada em uma região hidrofóbica, no interior da micela (WENNERSTROM, 1979).

Cada tensoativo conta com uma CMC característica. No entanto, o valor pode ser alterado por meio da adição de outros solutos, como sais, álcoois e outros compostos orgânicos, uma vez que afetam a termodinâmica da solução (RUIZ, 2008).

Na cromatografia planar, emprego de soluções de tensoativos como fase móvel foi inicialmente proposto por Farulla (1963). O trabalho relata a aplicação de dodecil sulfato de sódio (SDS), brometo de cetil-trimetil-amônio (CTAB) e Neutronix 675 na separação de diversos analitos, desenvolvida em papel W1.

Posteriormente, Armstrong (1979) propôs o uso de soluções de SDS com concentrações superiores à sua CMC, como alternativa para a separação de pesticidas, por meio de CCD. O tensoativo, de caráter aniônico, conta com a estrutura representada na **Figura 4**:

Figura 4 - Estrutura molecular do Dodecil Sulfato de Sódio.



Fonte: Autor

Para a aplicação em cromatografia planar, SDS é o tensoativo mais utilizado (ÁNGEL, 2009). A CMC do tensoativo, a 25 °C, é 0,008M (RUIZ, 2008).

Os trabalhos desenvolvidos por esses autores, entre outros relatados na literatura, também buscam compreender o mecanismo envolvido na separação dos analitos nessa modalidade de cromatografia planar. No entanto, a discussão abrange aspectos além do escopo do presente trabalho.

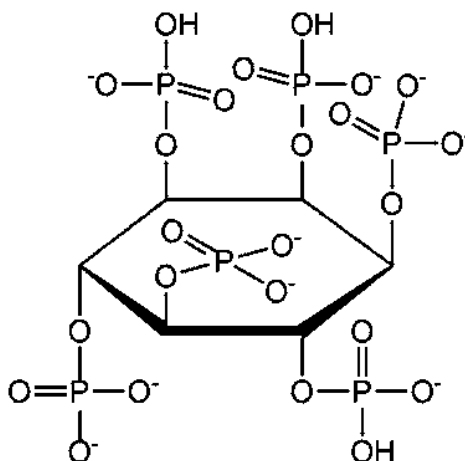
1.6.2. Glicerol como fase móvel

Proposto por Habib (2021, 2022), o glicerol como constituinte da fase móvel foi empregado na análise de fármacos antivirais, por CLAE. O solvente é encarado como alternativa sustentável e não agressiva ao manipulador, quando comparado com outros solventes utilizados nas análises por cromatografia líquida.

Na literatura, não foi encontrado relato do uso do composto para a preparação de fases móveis em cromatografia planar. No entanto, o composto pode ser empregado, desde que levada em consideração sua elevada viscosidade.

1.7. Fitato de sódio (99m Tc)

Destinado à cintilografia hepática, das vias linfáticas e avaliação de linfonodo sentinela, o fitato de sódio (99m Tc) (DCB 10042) é um radiofármaco amplamente utilizado na rotina da medicina nuclear diagnóstica. Ao ser administrado ao paciente, de forma intradérmica, o radiofármaco é difundido no compartimento linfático e se associa ao Cálcio extracelular, adquirindo comportamento de um radiofármaco coloidal e sendo captado pelo sistema reticuloendotelial (ALAVI, 1977; FERNANDES, 2015; IAEA, 2008; IAEA 2009; OGAWA, 2010; TAVARES, 2001). A **Figura 5** representa a estrutura molecular do fitato.

Figura 5 - Estrutura molecular do fitato.

Fonte: Autor

O radiofármaco é disponibilizado comercialmente na forma de componente não radioativo para marcação. As formulações podem ser preparadas a partir de fitato de sódio (DCB 00190) (IAEA, 2008), ácido fítico (DCB 00188) (IPEN, 2020) ou fitato de cálcio e magnésio (DCB 00189) (CMR, s.d.) como ingrediente ativo e cloreto estanoso dihidratado (DCB 09407) como agente redutor (IAEA, 2008; IPEN, 2020).

O fitato de sódio (^{99m}Tc) também deve ser submetido aos ensaios de controle de qualidade e atender aos parâmetros de esterilidade, ausência de endotoxinas bacterianas, pureza química, radionuclídica e radioquímica. O controle de qualidade radioquímico da preparação pode ser realizado por meio dos sistemas cromatográficos relatados na **Tabela 3**:

Tabela 3 - Sistemas propostos por agências reguladoras.

Sistema	Espécie Radioquímica	R_f	Referência
W1 ou CCDI-SG / Metanol 85%	Fitato de sódio		
	(^{99m}Tc)	0,0 – 0,1	IAEA, 2008
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,5 – 0,7	
W1 / Metanol 85%	Fitato de sódio		
	(^{99m}Tc)	0,0	IPEN, 2020
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,9 – 1,0	

Na literatura fornecida por agências reguladoras, o controle de qualidade radioquímico é realizado quantificando o valor da atividade relativa apenas ao $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ($\%^{99m}\text{TcO}_4^-$). Uma vez que o radiofármaco permanece na origem cromatográfica, junto ao tecnécio coloidal,

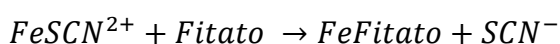
$^{99m}\text{TcO}_2$, a $\%^{99m}\text{TcO}_2$ não pode ser quantificada por meio dos métodos descritos (ZOLLE, 2007; IAEA, 2008).

Não há sistemas cromatográficos na literatura que possibilitem a migração de fitato de sódio (^{99m}Tc) com o fronte do solvente, mantendo $^{99m}\text{TcO}_2$ na origem da fita cromatográfica, evidenciando a carência de um sistema capaz de quantificar $^{99m}\text{TcO}_2$ presente nas preparações de fitato de sódio (^{99m}Tc) e tornando necessária a busca de novas alternativas para ensaios de controle de qualidade radioquímico para determinação da impureza.

1.8. Determinação colorimétrica de fitato

A determinação de fitato em amostras é de grande interesse na química nutricional e agrícola e diversos métodos para a quantificação do composto foram desenvolvidos ao longo dos anos (SIVAKUMARAN, 2018). Entre os métodos desenvolvidos, foi proposta por Bauza (2012) a determinação colorimétrica do composto em urina, por meio de espectrometria UV-Vis., através da precipitação de Fe^{3+} presente em tiocianato de ferro (FeSCN^{2+}) na presença de fitato.

No ensaio, FeSCN^{2+} perde sua coloração castanha, indicando visualmente a presença de fitato (MAROLT, 2021), servindo também como parâmetro qualitativo para a presença do composto. O processo pode ser representado pela reação:



2. OBJETIVOS

O trabalho tem como objetivo avaliar sistemas cromatográficos e propor uma alternativa que possibilite a quantificação de $^{99m}\text{TcO}_2$ presente na preparação de fitato de sódio (^{99m}Tc), por meio da remoção do fitato de sódio (^{99m}Tc) da origem, com $R_f > 0,1$, preferencialmente entre 0,9 e 1,0, mantendo $^{99m}\text{TcO}_2$ na origem, em um $R_f = 0,0 - 0,1$.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os componentes para marcação de fitato de sódio (^{99m}Tc) e geradores de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ foram fornecidos em sua forma comercial pelo Centro de Produção e Desenvolvimento de Radiofármacos do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (FITA-TEC[®] e GERADOR-IPEN-TEC[®]), bem como a estrutura e equipamentos para a constituição do radiofármaco e

realização dos ensaios. A **Tabela 4** indica a composição do componente FITA-TEC[®], liofilizado:

Tabela 4 - Formulação do FITA-TEC[®].

Componente	Quantidade
Ácido Fítico (DCB 00188)	20,0 mg
Cloreto Estanoso Dihidratado (DCB 09407)	1,0 mg

Fonte: IPEN, 2020

A água para o preparo de soluções foi obtida por meio do purificador Master System fornecido pela GEHAKA S/A.

Os solventes orgânicos acetona, metil-etil-cetona, metanol, ácido acético e os reagentes sólidos hidróxido de sódio, dodecil sulfato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de cálcio e tiocianato de potássio são de grau analítico, da Merck S/A.; cloreto estanoso dihidratado, da Moderna Química Ltda.; glicerol, da Labsynth Ltda. e cloreto férrico hexahidratado da Dinâmica Química Contemporânea Ltda.

As placas para cromatografia em camada delgada em sílica-gel, fase reversa (C18) e celulose, CCD de alta eficiência (CCDAE) em sílica-gel e celulose foram fornecidas pela Merck S/A. Papel cromatográfico Whatman 1 Chr, Whatman 3MM Chr e W31ET foram fornecidos pela General Electric Healthcare S/A e as placas de CCD instantânea em sílica-gel (CCDI-SG) sobre suporte de fibra de vidro foram fornecidas pela Agilent Technologies S/A.

A menos que especificado, as fitas cromatográficas para a avaliação dos sistemas foram preparadas com as dimensões descritas na **Tabela 5**:

Tabela 5 - Dimensões das fitas cromatográficas.

Fase Estacionária	Dimensões
	Comprimento x Largura / Trajeto (cm)
CCD	
CCDI-SG	12,5 x 1,5 / 10
Papel Whatman	
CCDAE	9,5 x 1,5 / 7

As amostras foram semeadas na fita cromatográfica 1,5 cm acima da base da cromatografia, por meio de tubo capilar de vidro. Os ensaios foram realizados em duplicatas, em cuba de vidro com atmosfera fechada, contendo a fase móvel. A temperatura do laboratório foi mantida entre 21 e 25°C.

3.1. Determinação da atividade radioativa

Após o desenvolvimento da corrida cromatográfica, as fases estacionárias foram seccionadas em segmentos de 1 cm cada, a partir da origem, que foram contados sequencialmente por um detector de iodeto de sódio (NaI), em um contador gama automático HIDEX AMG. Cada segmento teve sua atividade mensurada por 12 segundos, com janela de energia de 70 a 210 keV.

Os valores das contagens foram corrigidos para o tempo inicial de cada análise, devido ao decaimento radioativo no decorrer das contagens.

3.2. Determinação do fator de retardamento e do perfil cromatográfico

Para determinação do R_f e do perfil cromatográfico do fitato de sódio (^{99m}Tc), $^{99m}\text{TcO}_2$ e $^{99m}\text{TcO}_4^-$, foi calculada a porcentagem da atividade em cada segmento, $\%A_i$, conforme a **Equação 5**:

$$\%A_i = \frac{A_i}{A_t} \cdot 100 \quad (5)$$

Sendo A_i a atividade do i -ésimo segmento da fita cromatográfica, já corrigida quanto ao decaimento radioativo, e A_t a atividade total da fita de n segmentos, expressa pela somatória na **Equação 6** (MAIOLI, 2008, Adaptado).

$$A_t = \sum_{i=1}^n A_i \quad (6)$$

A faixa de R_f corresponde ao intervalo em que ocorreu aumento da contagem atribuída à espécie radioquímica avaliada (fitato de sódio (^{99m}Tc), $^{99m}\text{TcO}_2$ ou $^{99m}\text{TcO}_4^-$), expresso na **Equação 7**.

$$R_f = \frac{\text{Posição da espécie radioquímica}}{\text{Tamanho do percurso}} \quad (7)$$

A **%Atividade** presente em um intervalo de R_f se refere à somatória de $\%A_i$ ($\sum \%A_i$) dos segmentos encontrados no valor de R_f obtido experimentalmente para a espécie radioquímica.

Nas figuras representando os perfis cromatográficos, os dados relativos aos dois ensaios realizados em duplicata foram inseridos, sobrepostos.

3.3. Marcação do radiofármaco

Fitato de sódio (^{99m}Tc) foi preparado segundo os procedimentos descritos na bula de FITA-TEC[®] (IPEN, 2020). A atividade de $^{99m}\text{TcO}_4^-$ utilizada na marcação foi de 10 mCi em 3 mL (aproximadamente 3,3 mCi/mL). Após a reconstituição do reagente liofilizado, a preparação foi agitada e deixada em repouso por 15 minutos, em temperatura ambiente.

A $\%^{99m}\text{TcO}_4^-$ foi determinada utilizando sistema cromatográfico W3MM e Acetona (MALLOL, 1997).

3.4. Preparo de $^{99m}\text{TcO}_2$ e $^{99m}\text{TcO}_4^-$.

O pertecnetato livre foi obtido a partir da eluição do GERADOR-IPEN-TEC[®]. Uma alíquota de $^{99m}\text{TcO}_4^-$ contendo atividade de 20 mCi teve o volume completado até 6 mL com solução fisiológica, para obter concentração de atividade de cerca de 3,3 mCi/mL.

O $^{99m}\text{TcO}_2$ (tecnécio coloidal) foi preparado a partir de uma alíquota de 2 mCi do eluato, cujo volume foi completado até 2 mL com solução fisiológica. Foram adicionados 200 μL de uma solução de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a 12 g/L em HCl 0,1M. A solução foi agitada e deixada em repouso por 15 minutos.

Após o tempo de reação, o pH da solução foi corrigido para 8 com a adição de 250 μL de NaOH 0,2 mol/L para formação de $^{99\text{m}}\text{TcO}_2$ (CHOTKOWSKI, 2001), a fim de obter concentração de atividade de cerca de 0,8 mCi/mL.

Para avaliar a formação de $^{99\text{m}}\text{TcO}_2$ e a qualidade do $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ do eluato, foi realizada análise cromatográfica em sistema de papel W3MM e Acetona (MONTEIRO, 2012; MIRANDA, 2016).

3.5. Revelação de fitato de sódio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) por borrifamento com tiocianato de ferro

Como forma de evidenciar a migração de fitato de sódio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) ao longo da corrida cromatográfica, foi realizado ensaio qualitativo de borrifamento com solução recém-preparada de tiocianato de ferro (FeSCN^{2+}) sobre a fita de papel após o desenvolvimento da cromatografia, ressecada em estufa.

A solução foi recém-preparada a partir da mistura de volumes iguais de soluções de cloreto férrico (FeCl_3) 0,06M e tiocianato de potássio (KSCN) 0,4M.

3.6. Consulta bibliográfica

A busca por sistemas relatados na literatura foi realizada por meio das plataformas de pesquisa *Web of Science*, *Pub Med*, *Periódicos CAPES* e *Google Scholar*. Os termos-chave utilizados foram “*Radiochemical Quality Control*”, “*Technetium Phytate*”, “*Thin Layer Chromatography*” e “*Planar Chromatography*”.

3.7. Sistemas cromatográficos

Foram avaliados sistemas cromatográficos descritos na literatura, utilizados na rotina da medicina nuclear e na análise de compostos similares ao fitato de sódio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$).

Foram propostos sistemas com fase móvel de solução de SDS em diferentes concentrações, em meio aquoso ou na presença de modificantes na fase móvel, como NaCl 0,9% e glicerol. Também foram avaliadas soluções aquosas contendo apenas glicerol.

As concentrações de SDS estudadas foram de 0,005M, 0,01M, 0,02M, 0,03M e 0,04M. As concentrações de 0,005M e 0,01M foram incluídas no estudo como forma de compreender o comportamento cromatográfico das espécies radioquímicas em concentrações de SDS inferiores e próximas à CMC (0,008M), respectivamente. As soluções foram avaliadas como

fase móvel nas fases estacionárias de CCDI-SG, CCD-SG e Celulose, CCD-C18, CCDAE-SG e Celulose, W1 e W3MM.

A solução de SDS 0,02M em meio de NaCl 0,9% foi avaliada como fase móvel nas fases estacionárias de CCDI-SG, CCD-SG e W1.

Soluções de glicerol a 5%, 10% e 20% (v/v) foram avaliadas com fase móvel nas fases estacionárias de CCDI-SG, CCD-SG, CCD-C18, W1 e W3MM, CCDAE-SG e CCDAE-Celulose.

Soluções de SDS preparadas em meio de glicerol a 5% e 10% foram avaliadas como fase móvel nas fases estacionárias de CCDI-SG, CCD-SG, W1 e W3MM.

Para a discussão do R_f de $^{99m}\text{TcO}_2$ e $^{99m}\text{TcO}_4^-$, foram selecionados sistemas que permitiram migração do fitato de sódio (^{99m}Tc), com **%Atividade** do radiofármaco superior a 95% em um $R_f > 0,1$.

Na escolha de sistemas cromatográficos para a determinação de $\%^{99m}\text{TcO}_2$, foram selecionados aqueles nos quais o radiofármaco apresentou $R_f > 0,1$, com **%Atividade** no R_f superior a 99%, enquanto $^{99m}\text{TcO}_2$ e $^{99m}\text{TcO}_4^-$ apresentaram $R_f = 0,0 - 0,1$ e $R_f > 0,1$, respectivamente, com **%Atividade** superior a 98% nos respectivos R_f .

Os ensaios para determinação da pureza radioquímica da preparação fitato de sódio (^{99m}Tc) foram realizados quantificando $\%^{99m}\text{TcO}_2$ por meio dos sistemas selecionados e $\%^{99m}\text{TcO}_4^-$ por meio do sistema de W3MM e acetona (MALLOL, 1997). A **%PRq** foi calculada segundo a **Equação 2** (1.6.).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A $\%^{99m}\text{TcO}_4^-$ nas preparações de fitato de sódio (^{99m}Tc) foi inferior a 1% em todos os ensaios realizados.

Das fases móveis mais utilizadas no controle radioquímico, acetona, metanol 85% (v/v), metil-etil-cetona (MEC) e NaCl 0,9% são as mais tradicionais (ZOLLE, 2007, MALLOL, 1997; MIRANDA, 2016). Foram determinados os R_f de fitato de sódio (^{99m}Tc), $^{99m}\text{TcO}_2$ e $^{99m}\text{TcO}_4^-$ em CCDI-SG, CCD-SG e C18 e papel W1 e W3MM. A **Tabela 6** relaciona o R_f do

radiofármaco e das impurezas radioquímicas, onde a **%Atividade** ($\sum \%Ai$) define a porcentagem de atividade presente no intervalo do R_f .

Tabela 6 - R_f do fitato de sódio (^{99m}Tc) e impurezas radioquímicas com sistemas cromatográficos tradicionais.

Fase Móvel	Espécie Radioquímica	CCDI –SG	CCD-SG	CCD-C18	W1	W3MM
R_f (% Atividade)						
Acetona	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 ^a	0,0 - 0,1 ^a	0,0 - 0,1 (99,9% \pm 0,0)	0,0 - 0,1 ^a	0,0 - 0,1 ^b
	Fitato de sódio (^{99m}Tc)	0,0 - 0,1 (98,9% \pm 0,4)	0,0 - 0,1 (98,6% \pm 0,0)	0,0 - 0,1 (99,6% \pm 0,0)	0,0 - 0,1 (99,8% \pm 0,0)	0,0 - 0,1 ^b
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,8 - 1,0 ^a	0,7 - 1,0 ^a	-	0,6 - 0,9 ^a	0,6 - 0,9 ^b
Metanol 85%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 ^a	0,0 - 0,1 ^a	0,0 - 0,1 (99,8% \pm 0,0)	0,0 - 0,1 ^a	0,0 - 0,1 ^a
	Fitato de sódio (^{99m}Tc)	0,0 - 0,1 (93,7% \pm 3,0)	0,0 - 0,1 (96,0% \pm 0,0)	0,0 - 0,1 (98,3% \pm 0,1)	0,0 - 0,1 (93,5% \pm 0,2)	0,0 - 0,1 (99,4% \pm 0,0)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,7 - 1,0 (99,8% \pm 0,0)	0,6 - 0,9 ^a	0,8 - 1,0 (99,5% \pm 0,2)	0,3 - 0,6 ^a	0,3 - 0,7 ^a
Metil-etil-cetona	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 ^a	0,0 - 0,1 ^a	0,0 - 0,1 (99,9% \pm 0,0)	0,0 - 0,1 ^a	0,0 - 0,1 ^a
	Fitato de sódio (^{99m}Tc)	0,0 - 0,1 (97,7% \pm 0,9)	0,0 - 0,1 (94,8% \pm 0,7)	0,0 - 0,1 (97,4% \pm 0,1)	0,0 - 0,1 (98,9% \pm 0,3)	0,0 - 0,1 (99,4% \pm 0,0)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,8 - 1,0 ^b	0,8 - 1,0 ^a	-	0,7 - 0,9 ^a	0,8 - 1,0 ^a
NaCl 0,9%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 ^a	0,0 - 0,1 ^a	0,0 - 0,1 (99,1% \pm 0,0)	0,0 - 0,1 ^a	0,0 - 0,1 (99,8% \pm 0,0)
	Fitato de sódio (^{99m}Tc)	0,0 - 0,1 (75,7% \pm 1,5)	0,2 - 1,0* (62,5% \pm 0,2)	0,0 - 0,1 (61,5% \pm 1,4)	0,1 - 1,0 (92,7% \pm 0,4)	0,1 - 1,0 (89,9% \pm 0,0)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,8 - 1,0 (99,3% \pm 0,1)	0,8 - 1,0 ^a	0,4 - 1,0 (97,4% \pm 0,2)	0,6 - 0,8 ^a	0,6 - 0,9 ^a

^a Monteiro (2012); ^b Mallol (1997)

*Sistema avaliado por Fernandes (2015) e Mota (2015).

Em sistemas cromatográficos que utilizam acetona, metanol e MEC como fase móvel, o fitato de sódio (^{99m}Tc) permaneceu retido na origem junto ao $^{99m}\text{TcO}_2$ ($R_f = 0,0 - 0,1$), corroborando com o descrito por Mallol (1997). Nesses sistemas, $^{99m}\text{TcO}_4^-$ foi carregado junto ao frente do solvente ($R_f = 0,4 - 1,0$), permitindo sua separação, com exceção de Acetona e MEC em CCD-C18, nos quais $^{99m}\text{TcO}_4^-$ não apresentou um R_f definido.

Os sistemas CCD-SG e papel W1 e W3MM com fase móvel de NaCl 0,9% permitiram a migração de fitato de sódio (^{99m}Tc) da origem. Em W1, 92,7% de fitato de sódio (^{99m}Tc) é

removido da origem ($R_f > 0,1$). No entanto, 7,3% da atividade ainda permaneceu na origem, com sobreposição das atividades relativas do produto e $^{99m}\text{TcO}_2$, inviabilizando a quantificação da impureza radioquímica de forma adequada.

O sistema de CCD-SG com NaCl 0,9% como alternativa para a quantificação de $^{99m}\text{TcO}_2$ foi proposto por Fernandes (2015) e Mota (2015). No entanto, apenas 61,5% do radiofármaco foi removido da origem, inviabilizando a quantificação da impureza.

Sistemas descritos na literatura para análise de compostos similares ao fitato de sódio (^{99m}Tc) foram avaliados. A **Tabela 7** relata o R_f do fitato de sódio (^{99m}Tc), $^{99m}\text{TcO}_2$ e $^{99m}\text{TcO}_4^-$ nos sistemas:

Tabela 7 - R_f do fitato de sódio (^{99m}Tc).

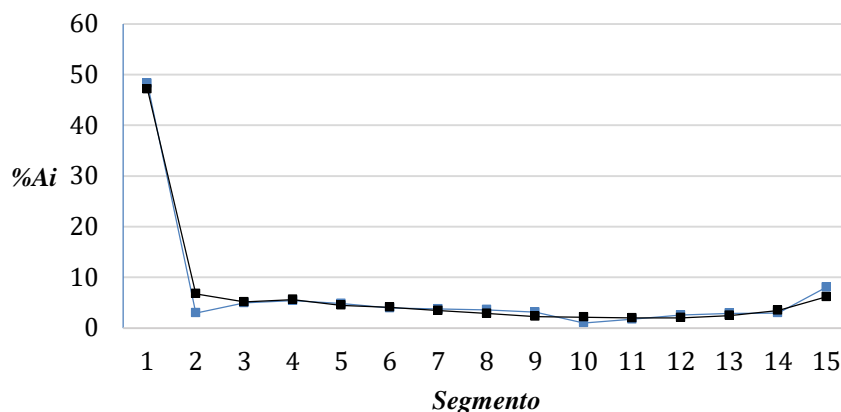
Sistema	Espécie Radioquímica	R_f (% Atividade)
CCD-SG / Acetona:HAc 30% (4:6)	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (77,1% \pm 1,4)
	Fitato de sódio (^{99m}Tc)	0,0 - 0,4 (50,6% \pm 2,3)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,6 - 1,0 (100% \pm 0,0)
W31ET / CaCl ₂ 10%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (98,4% \pm 0,0)
	Fitato de sódio (^{99m}Tc)	0,0 - 0,2 (57,6% \pm 2,0)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,1 - 1,0 (99,4% \pm 0,1)

O sistema de CCD-SG com mistura de acetona e ácido acético 30% (4:6) como fase móvel foi utilizado por Hong (2012) na determinação de espécies fosfatadas de Inositol em amostras de solo e foi relatado o R_f de 0,43 para o inositol hexafosfatado (Fitato). No entanto, 50,6% da atividade de fitato de sódio (^{99m}Tc) permaneceu na origem ($R_f = 0,0 - 0,4$), assim como $^{99m}\text{TcO}_2$ ($R_f = 0,0 - 0,1$), com 77,1% na origem.

O sistema de W31ET com cloreto de cálcio 10% como fase móvel, com percurso cromatográfico de 15 cm, é indicado como método para avaliação da pureza radioquímica de ^{99m}Tc -Technephyte[®] (CMR, s.d.). O R_f descrito para ^{99m}Tc -Technephyte[®] no sistema é de 0,3 - 0,4. Nos ensaios com fitato de sódio (^{99m}Tc), 57,6% da atividade do radiofármaco

permaneceu na origem ($R_f = 0,0 - 0,2$), assim como $^{99m}\text{TcO}_2$ ($R_f = 0,0 - 0,1$), com 98,4% na origem. Nesse sistema, houve dispersão do restante da atividade ao longo da fita, conforme relatado na **Figura 6**:

Figura 6 - Perfil de fitato de sódio (^{99m}Tc) em W31ET / CaCl_2 10%. Ensaio em duplicata.



4.1. Fitato de sódio (^{99m}Tc) em sistema cromatográfico com solução de SDS como fase móvel

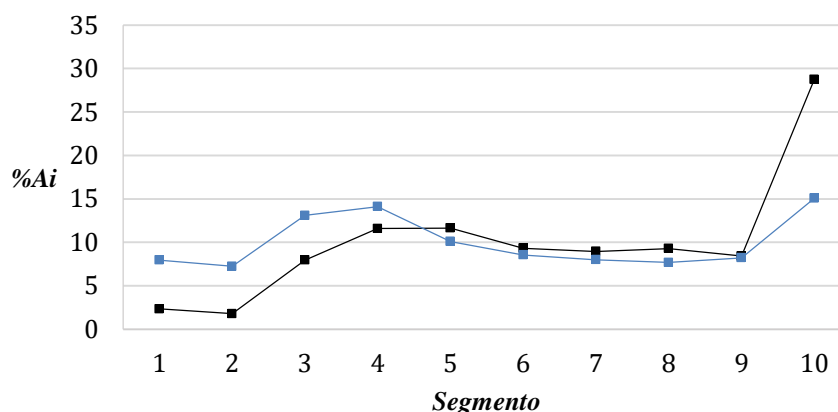
A **Tabela 8** relata o R_f do fitato de sódio (^{99m}Tc) nos sistemas cromatográficos de CCDI-SG, CCD-SG e Celulose, CCD-C18, CCDAE-SG e Celulose, W1 e W3MM como fase estacionária e as soluções de SDS nas concentrações de 0,005M, 0,01M, 0,02M, 0,03M e 0,04M como fase móvel:

Tabela 8 - R_f de fitato de sódio (99m Tc) em sistemas cromatográficos com fase móvel de solução de SDS.

Fase Móvel	Espécie Radioquímica	CCDI-SG	CCD-SG	CCD-Cel	CCD-C18	CCDAE-SG	CCDAE-Cel	W1	W3MM
		R_f (% Atividade)							
SDS 0,005M	Fitato de sódio	0,0-0,1	0,1 - 1,0	0,0 - 0,5	0,1 - 1,0	-	0,0 - 0,71	0,1 - 1,0	0,1 - 1,0
	(99m Tc)	(56,7% ± 0,6)	(87,9% ± 0,6)	(83,4% ± 0,2)	(94,9% ± 4,0)	-	(81,7% ± 0,2)	(90,1% ± 0,3)	(82,7% ± 0,3)
SDS 0,01M	Fitato de sódio	0,1 - 1,0	0,1 - 1,0	0,0 - 0,5	0,0 - 0,6	0,14 - 1,0	0,0 - 0,71	0,1 - 1,0	0,1 - 1,0
	(99m Tc)	(77,9% ± 2,7)	(85,4% ± 0,9)	(89,4% ± 0,8)	(90,1% ± 0,3)	(93,4% ± 1,0)	(85,3% ± 0,4)	(92,1% ± 2,3)	(80,9% ± 0,8)
SDS 0,02M	Fitato de sódio	0,1 - 1,0	0,1 - 1,0	0,0 - 0,6	0,0 - 0,6	0,14 - 1,0	0,0 - 0,71	0,1 - 1,0	0,1 - 1,0
	(99m Tc)	(95,7% ± 0,1)	(84,5% ± 0,1)	(82,9% ± 1,3)	(71,6% ± 1,3)	(92,5% ± 0,4)	(69,7% ± 0,5)	(94,4% ± 1,0)	(92,8% ± 0,3)
SDS 0,03M	Fitato de sódio	0,1 - 1,0	0,1 - 1,0	0,0 - 0,5	0,0 - 0,6	0,14 - 1,0	0,14 - 1,0	0,1 - 1,0	0,1 - 1,0
	(99m Tc)	(96,5% ± 0,9)	(85,8%)	(81,89%)	(68,2% ± 0,7)	(69,9% ± 6,5)	(74,6% ± 1,0)	(95,7% ± 1,2)	(92,9% ± 0,1)
SDS 0,04M	Fitato de sódio	0,1 - 1,0	0,1 - 1,0	0,0 - 0,5	0,0 - 0,6	0,14 - 1,0	0,0 - 0,71	0,1 - 1,0	0,1 - 1,0
	(99m Tc)	(95,5% ± 0,8)	(82,5% ± 1,2)	(56,0% ± 0,8)	(66,0% ± 7,6)	(78,7% ± 1,3)	(75,3% ± 2,1)	(94,5% ± 0,8)	(93,2% ± 0,3)

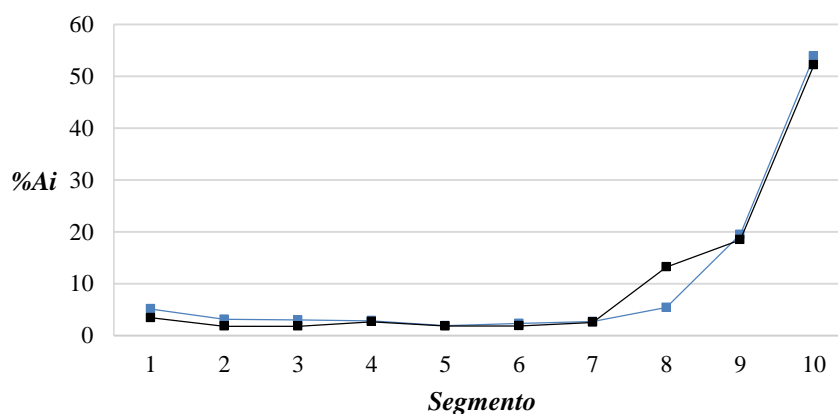
Com exceção de CCD-C18 (com SDS 0,01M a 0,04M), CCD-Celulose e CCDAE-Celulose, os sistemas apresentaram remoção de fitato de sódio (99m Tc) da origem. Nos sistemas de CCD-C18, 66,1% a 90,1% da atividade do fitato de sódio (99m Tc) permaneceu nos $R_f = 0,0 - 0,6$, mas, com fase móvel de SDS 0,005M, há a migração de 94,9% de fitato de sódio (99m Tc) ($R_f = 0,1 - 1,0$). No entanto, a corrida apresenta um artefato em $R_f = 0,3 - 0,6$, que se torna mais evidente nas concentrações superiores de SDS. A **Figura 7** mostra o perfil do radiofármaco no sistema de CCD-C18 com SDS 0,005M:

Figura 7 - Perfil de fitato de sódio (^{99m}Tc) em CCD-C18 / SDS 0,005M. Ensaio em duplicata.



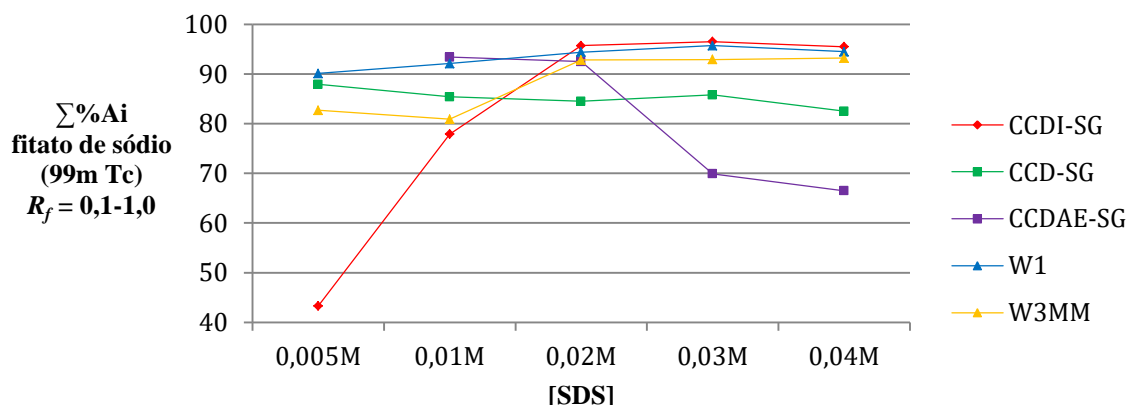
Nos sistemas de W1, a remoção de fitato de sódio (^{99m}Tc) da origem foi superior a 90% nas cinco concentrações de SDS enquanto em CCDI e W3MM a remoção do radiofármaco da origem ($R_f = 0,1 - 1,0$) ocorreu a partir de 0,02M, sendo que aproximadamente 5% da atividade permaneceu na origem. Através da **Figura 8**, é possível notar a migração do fitato de sódio (^{99m}Tc) junto ao frente do solvente no sistema de W1 com SDS 0,03M.

Figura 8 - Perfil de fitato de sódio (^{99m}Tc) em W1/ SDS 0,03M. Ensaio em duplicata.



Em sistemas com CCD-SG, mesmo com remoção de parte da atividade de fitato de sódio (^{99m}Tc) da origem ($R_f = 0,1 - 1,0$), a migração foi inferior a 90%. Em CCDAE-SG, concentrações de 0,01M e 0,02M de SDS permitiram separação superior a 90%, porém o desempenho decresceu nas concentrações de 0,03M e 0,04M. Os sistemas de CCDI-SG, W1 e W3MM atingiram um platô nas concentrações superiores à CMC do SDS ($> 0,008\text{M}$). Os melhores desempenhos nos ensaios se deram nos sistemas de CCDI-SG e W1 com concentrações de SDS 0,02 a 0,04M, com remoção de fitato de sódio (^{99m}Tc) da origem ($R_f = 0,1 - 1,0$) em torno de 95%. Os comportamentos podem ser observados na **Figura 9**.

Figura 9 - % Atividade de fitato de sódio (^{99m}Tc) no $R_f = 0,1 - 1,0$ em diferentes concentrações de SDS.



Para a avaliação posterior de modificantes nas fases móveis de SDS, as fases estacionárias em CCD-C18, CCD-Celulose e CCDAE-Celulose foram desconsideradas.

4.2. Fitato de sódio (^{99m}Tc) em sistemas com solução de SDS e NaCl 0,9% como fase móvel

A **Tabela 9** relata o R_f do radiofármaco nos sistemas cromatográficos de CCDI-SG, CCD-SG e W1 com fase móvel de solução de SDS 0,02M preparada em NaCl 0,9%.

Tabela 9 - R_f de fitato de sódio (^{99m}Tc) em sistemas cromatográficos com fase móvel de SDS 0,02M em meio de NaCl 0,9%.

Fase Móvel	Espécie Radioquímica	CCDI-SG	CCD-SG	W1
		R_f (% Atividade)		
SDS 0,02M/ NaCl 0,9%	Fitato de sódio (^{99m}Tc)	0,1 - 1,0 (74,6% \pm 2,0)	0,1 - 1,0 (71,1% \pm 0,3)	0,1 - 1,0 (94,0% \pm 0,0)

Nos sistemas, houve remoção de fitato de sódio (^{99m}Tc) da origem ($R_f = 0,1 - 1,0$). Em CCDI-SG e CCD-SG, houve redução na remoção (74,6% e 71,1%, respectivamente), quando comparado ao sistema com fase móvel de solução aquosa de SDS 0,02M (95,7% e 84,5%). Em paralelo, o sistema de W1 apresentou remoção similar (94,0%) àquele sem adição de NaCl 0,9% (94,4%).

Umlong (2007) observou que o valor da CMC do SDS em meio de NaCl 0,9% não é alterado.

4.3. Fitato de sódio (99m Tc) em sistemas com solução de glicerol como fase móvel

A **Tabela 10** relata o R_f do radiofármaco nos sistemas cromatográficos de CCDI-SG, CCD-SG, CCD-C18, W1 e W3MM, CCDAE-SG e CCDAE-Celulose com fase móvel de glicerol a 5%, 10% e 20%. Devido à viscosidade das soluções de glicerol e tempo prolongado do desenvolvimento da cromatografia superior a duas horas, a fase estacionária de CCD-Celulose não foi avaliada.

Tabela 10 - R_f de fitato de sódio (99m Tc) em sistemas cromatográficos com fase móvel de solução de glicerol.

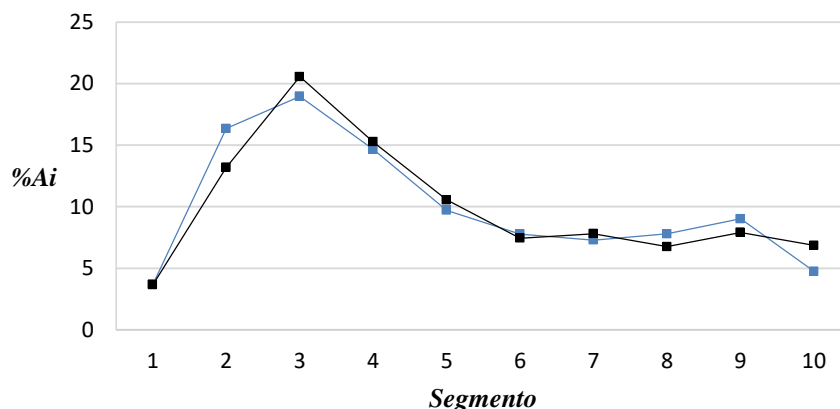
Fase Móvel	Espécie Radioquímica	CCDI-SG	CCD-SG	CCD-C18	CCDAE-SG	CCDAE-Cel	W1	W3MM
		R_f (% Atividade)						
Glicerol 5%	Fitato de sódio	0,0 - 0,3	0,1 - 1,0	0,1 - 1,0			0,1 - 1,0	0,1 - 1,0
	(99m Tc)	(82,5% ± 0,9)	(90,9 ± 2,8)	(91,7% ± 1,1)	-	-	(93,9% ± 1,1)	(82,9% ± 3,5)
Glicerol 10%	Fitato de sódio	0,0 - 0,3	0,1 - 0,9	0,0 - 0,6	0,14 - 1,0	0,14 - 1,0	0,1 - 1,0	0,1 - 1,0
	(99m Tc)	(83,8% ± 0,5)	(94,9 ± 0,1)	(61,9% ± 6,5)	(80,7% ± 0,6)	(82,4% ± 0,7)	(96,4% ± 3,6)	(64,4% ± 0,4)
Glicerol 20%	Fitato de sódio	0,0 - 0,3		0,0 - 0,6	0,14 - 1,0		0,1 - 1,0	0,0 - 0,3
	(99m Tc)	(82,2% ± 1,2)	-	(70,9% ± 0,3)	(87,5% ± 0,0)	-	(94,7% ± 0,3)	(50,4% ± 0,0)

Nos sistemas de CCDI-SG, o fitato de sódio (99m Tc) permanece retido na origem, com %Atividade de cerca de 83%, em um R_f de 0,0 - 0,3.

Em CCD-SG, o fitato de sódio (99m Tc) foi removido da origem ($R_f = 0,1 - 1,0$) pelas fases móveis de com concentração de 5% e 10% de glicerol (90,9% e 94,9%, respectivamente). O sistema com fase móvel de glicerol 20% não completou o desenvolvimento da cromatografia, devido à viscosidade da solução.

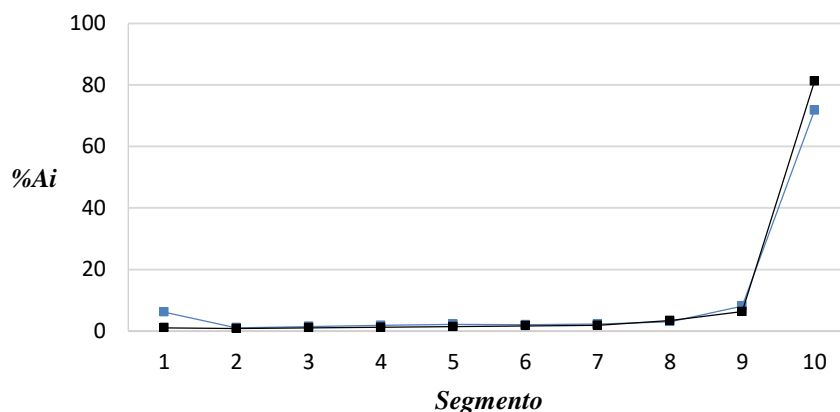
Os sistemas de CCD-C18 apresentaram desempenho decrescente, conforme o aumento da concentração de glicerol na fase móvel. Em 5% do soluto, o fitato de sódio (99m Tc) foi retirado da origem em 91,7%. No entanto, as concentrações de 10% e 20% levaram ao aumento da retenção do radiofármaco na primeira porção da corrida ($R_f = 0,0 - 0,6$), em 61,9% e 70,9%, respectivamente, com alargamento do pico. A **Figura 10** relata o perfil cromatográfico do radiofármaco no sistema de CCD-C18 com solução de glicerol 10%:

Figura 10 - Perfil de fitato de sódio (^{99m}Tc) em CCD-C18 / glicerol 10%. Ensaio em duplicata.



Os sistemas de papel W1 possibilitaram a remoção do fitato de sódio (^{99m}Tc) da origem ($R_f = 0,1 - 1,0$) superior a 94%. O melhor desempenho foi observado pelo sistema com fase móvel de glicerol em 10%, com migração de 96,4% de fitato de sódio (^{99m}Tc), enquanto as concentrações de glicerol a 5% e 20% mostraram 93,9% e 94,7% de migração para o $R_f = 0,1 - 1,0$, respectivamente. A **Figura 11** relata o perfil cromatográfico do radiofármaco.

Figura 11 - Perfil de fitato de sódio (^{99m}Tc) em W1 / glicerol 10%. Ensaio em duplicata.



Os perfis cromatográficos dos sistemas de W1 com glicerol se mostraram similares, com grande parcela da atividade do radiofármaco carregada junto com o fronte do solvente. O sistema realizado com glicerol 10% apresentou 70 a 80% da atividade no último segmento da cromatografia.

Nos sistemas de W3MM, o aumento da concentração de glicerol promoveu decréscimo no deslocamento do fitato de sódio (^{99m}Tc) no sistema cromatográfico.

Em CCDAE-SG e Celulose, as fases móveis avaliadas permitiram a migração de parte do fitato de sódio (99m Tc) para o $R_f = 0,1 - 1,0$, no entanto, inferior a 90%. Em ambos, glicerol a 5% não foi avaliado, enquanto em CCDAE-Celulose glicerol a 20% não completou o ensaio, devido à viscosidade da solução.

4.4. Fitato de sódio (99m Tc) em sistemas com solução de SDS e glicerol como fase móvel

A **Tabela 11** relata o R_f do fitato de sódio (99m Tc) nos sistemas de CCDI-SG, CCD-SG, W1 e W3MM com fases móveis de soluções de SDS 0,005M, 0,01M, 0,02M, 0,03M e 0,04M preparadas em meio de glicerol a 5% e SDS 0,02M em meio de glicerol a 10%.

Tabela 11 - R_f de fitato de sódio (99m Tc) em sistemas cromatográficos com fase móvel de SDS em meio de glicerol a 5% e 10%.

Fase Móvel	Espécie Radioquímica	CCDI-SG	CCD-SG	W1	W3MM
		R_f (% Atividade)			
SDS 0,005M / glicerol 5%	Fitato de sódio (99m Tc)	-	-	0,1 - 1,0 (89,5% \pm 0,6)	0,1 - 1,0 (85,0% \pm 0,4)
SDS 0,01M / glicerol 5%	Fitato de sódio (99m Tc)	-	-	0,1 - 1,0 (95,9% \pm 0,7)	0,1 - 1,0 (96,2% \pm 0,9)
SDS 0,02M / glicerol 5%	Fitato de sódio (99m Tc)	0,1 - 1,0 (88,3%)	0,1 - 1,0 (92,2%)	0,1 - 1,0 (98,6% \pm 0,3)	0,1 - 1,0 (96,3% \pm 1,3)
SDS 0,03M / glicerol 5%	Fitato de sódio (99m Tc)	-	-	0,1 - 1,0 (99,1% \pm 0,0)	0,1 - 1,0 (99,3% \pm 0,2)
SDS 0,04M / glicerol 5%	Fitato de sódio (99m Tc)	-	-	0,1 - 1,0 (99,3% \pm 0,1)	0,1 - 1,0 (99,2% \pm 0,1)
SDS 0,02M / glicerol 10%	Fitato de sódio (99m Tc)	0,1 - 1,0 (88,3%)	0,1 - 1,0 (92,8% \pm 0,2)	0,1 - 1,0 (97,4% \pm 1,6)	0,1 - 1,0 (97,2% \pm 0,2)

Nos sistemas de CCDI-SG, a adição de glicerol como modificante às soluções de SDS promoveu decréscimo na capacidade de remoção de fitato de sódio (99m Tc) da origem. A fase móvel composta de solução aquosa de SDS 0,02M apresentou a remoção de 95,7% do radiofármaco da origem ($R_f = 0,1 - 1,0$), ao passo que a adição de glicerol a 5% e 10% levou à remoção de 88,3% do radiofármaco.

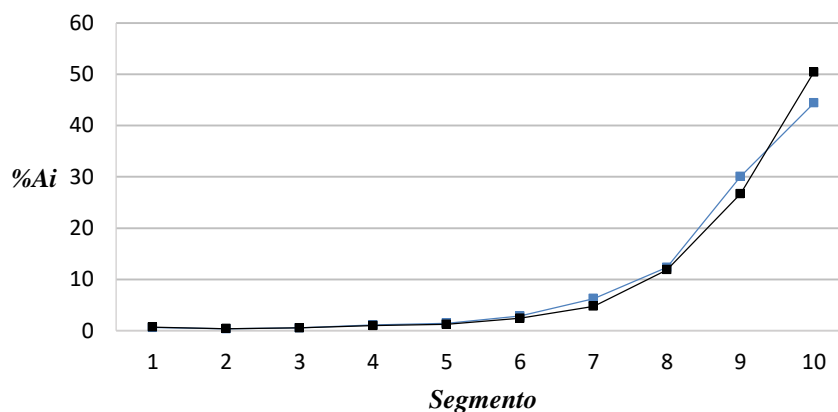
Em paralelo, os sistemas de CCD-SG contaram com aprimoramento no deslocamento do fitato de sódio (99m Tc). Enquanto a solução aquosa de SDS 0,02M levou à remoção de

84,5% do radiofármaco da origem, a adição de glicerol a 5% e 10% levou à remoção de 92,2% e 92,8% ($R_f = 0,1 - 1,0$), respectivamente.

Nos sistemas de papel W1 e W3MM, a adição de glicerol à fase móvel contendo SDS também promoveu aumento na capacidade de migração de fitato de sódio (99m Tc) para um $R_f > 0,1$. Uma vez que a adição do modificante permitiu a remoção de mais de 95% do fitato de sódio (99m Tc) da origem ($R_f = 0,1 - 1,0$), foram avaliadas as concentrações de 0,005M a 0,04M de SDS.

Em papel W1, enquanto a fase móvel com concentração de 0,03M de SDS contou com a maior capacidade de remoção do radiofármaco da origem (95,7%) entre os sistemas realizados com solução aquosa do tensoativo, a fase móvel preparada em meio de glicerol a 5% com SDS a 0,04M apresentou a maior capacidade de migração do fitato de sódio (99m Tc), com %Atividade de 99,3% no $R_f = 0,1 - 1,0$. A **Figura 12** relata o perfil do radiofármaco no sistema:

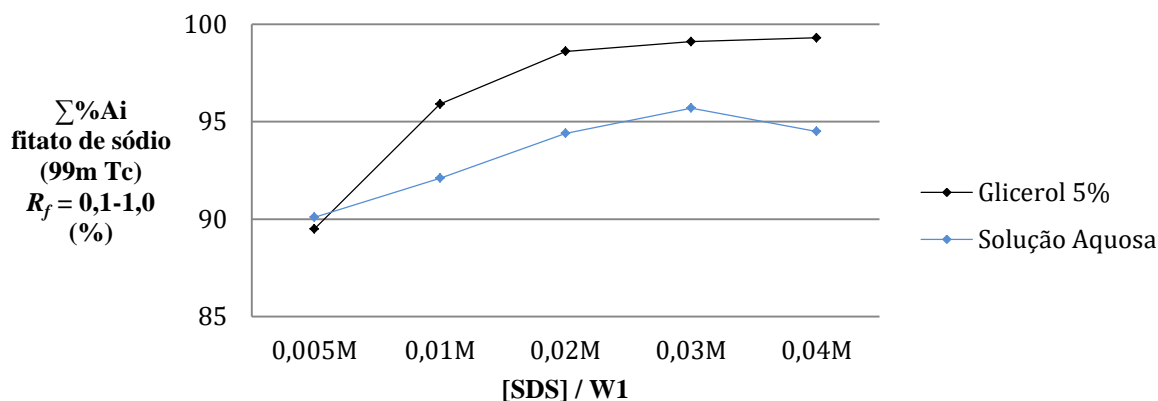
Figura 12 - Perfil de fitato de sódio (99m Tc) em W1 / SDS 0,04M em meio de glicerol a 5%. Ensaio em duplicata.



Em papel W3MM, enquanto a fase móvel com concentração de 0,04M de SDS contou com a maior capacidade de remoção do radiofármaco da origem (93,2%) entre os sistemas realizados com solução aquosa do tensoativo, a fase móvel preparada em meio de glicerol a 5% com SDS a 0,03M apresentou a maior capacidade de migração do fitato de sódio (99m Tc), com %Atividade de 99,2% no $R_f = 0,1 - 1,0$.

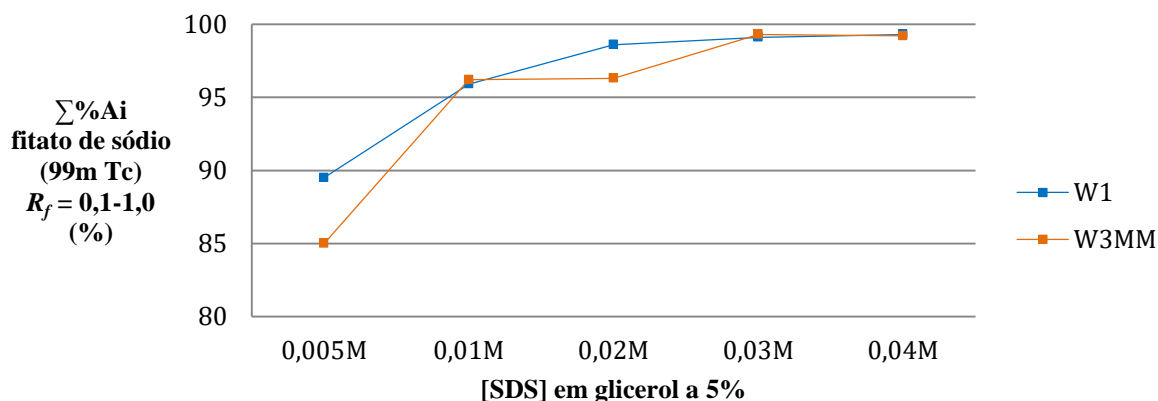
A **Figura 13** compara o desempenho da migração de fitato de sódio (99m Tc) dos sistemas em W1 com as fases móveis de SDS em meio aquoso e glicerol a 5%:

Figura 13 - %Atividade de fitato de sódio (99m Tc) no $R_f = 0,1 - 1,0$ em sistemas cromatográficos de W1 com diferentes concentrações de SDS em solução aquosa e glicerol a 5%.



A **Figura 14** compara a migração de fitato de sódio (99m Tc) nos sistemas de SDS em meio de glicerol a 5% em papel W1 e W3MM:

Figura 14 - %Atividade de fitato de sódio (99m Tc) no $R_f = 0,1 - 1,0$ em sistemas cromatográficos de W1 e W3MM com diferentes concentrações de SDS em glicerol a 5%.



Em ambas as fases estacionárias de CP, é possível notar o aumento na capacidade de remoção de fitato de sódio (99m Tc) da origem, conforme a concentração do tensoativo na fase móvel foi elevada, de forma similar ao observado nas preparadas em solução aquosa.

SDS e glicerol apresentaram comportamento sinérgico, quando empregados como fase móvel, aumentando a capacidade de migração do radiofármaco nos sistemas de papel, em especial em concentrações superiores à CMC do tensoativo (0,008M).

A adição de glicerol como co-solvente em soluções de SDS tende a elevar o valor de CMC do tensoativo. No entanto, teores de 5% e 10% de glicerol não são suficientes para provocar alteração apreciável no valor, conforme observado por Ruiz (2008).

4.5. $^{99m}\text{TcO}_2$ e $^{99m}\text{TcO}_4^-$

Em todos os ensaios, a $\%^{99m}\text{TcO}_4^-$ nas preparações de pertecnetato livre e a $\%^{99m}\text{TcO}_2$ nas preparações de tecnécio coloidal foram superiores a 99%.

A **Tabela 12** relata o R_f das espécies nos sistemas de CCDI-SG, CCD-SG, papel W1 e W3MM e CCDAE-SG realizados com soluções aquosas de SDS a 0,005M, 0,01M, 0,02M, 0,03M e 0,04M como fase móvel. Os sistemas de CCD-C18 e CCD-Celulose e CCDAE-Celulose não foram avaliados, devido ao baixo desempenho na migração de fitato de sódio (^{99m}Tc).

Tabela 12 - R_f das impurezas em sistemas cromatográficos com fase móvel de solução de SDS.

Fase Móvel	Espécie Radioquímica	CCDI-SG	CCD-SG	CCDAE-SG	W1	W3MM
		R_f (% Atividade)				
SDS 0,005M	$^{99m}\text{TcO}_2$	-	-	-	0,0 - 0,1 (94,3% \pm 0,3)	0,0 - 0,1 (98,8% \pm 0,2)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	-	-	-	0,5 - 0,9 (95,5% \pm 4,1)	0,5 - 0,9 (99,7% \pm 0,0)
SDS 0,01M	$^{99m}\text{TcO}_2$	-	0,0 - 0,1 (87,3% \pm 0,8)	0,0 - 0,1 (75,0%)	0,0 - 0,1 (95,5% \pm 0,1)	0,0 - 0,1 (96,9% \pm 0,2)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,5 - 1,0 (99,8% \pm 0,0)	0,7 - 1,0 (99,8% \pm 0,0)	0,8 - 1,0 (99,8% \pm 0,2)	0,5 - 0,9 (99,5% \pm 0,1)	0,5 - 0,9 (99,6% \pm 0,1)
SDS 0,02M	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (85,3% \pm 3,3)	0,0 - 0,1 (87,5% \pm 0,2)	0,0 - 0,1 (84,1%)	0,0 - 0,1 (98,6% \pm 0,1)	0,0 - 0,1 (97,3% \pm 1,1)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,7 - 1,0 (99,9% \pm 0,0)	0,7 - 1,0 (99,8% \pm 0,0)	0,8 - 1,0 (99,9% \pm 0,0)	0,5 - 0,9 (98,1% \pm 1,5)	0,5 - 0,9 (98,3% \pm 0,5)
SDS 0,03M	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (85,5% \pm 0,1)	0,0 - 0,1 (97,2% \pm 0,1)	0,0 - 0,1 (87,3% \pm 0,2)	0,0 - 0,1 (98,4% \pm 0,4)	0,0 - 0,1 (97,8% \pm 0,6)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,6 - 1,0 (99,9% \pm 0,0)	0,6 - 1,0 (99,7% \pm 0,0)	0,8 - 1,0 (99,8% \pm 0,1)	0,5 - 0,9 (98,6% \pm 0,1)	0,5 - 0,8 (99,8% \pm 0,0)
SDS 0,04M	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (91,3% \pm 1,3)	0,0 - 0,1 (96,9% \pm 0,3)	0,0 - 0,1 (89,7% \pm 1,8)	0,0 - 0,1 (98,9% \pm 0,4)	0,0 - 0,1 (98,8% \pm 0,2)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,6 - 1,0 (99,8% \pm 0,1)	0,6 - 1,0 (99,8% \pm 0,1)	0,8 - 1,0 (99,7% \pm 0,1)	0,5 - 0,9 (98,1% \pm 0,2)	0,5 - 0,8 (99,8% \pm 0,0)

Nos sistemas avaliados, as impurezas apresentaram comportamento similar ao observado em sistemas relatados na aplicação da rotina da medicina nuclear.

$^{99m}\text{TcO}_4^-$ foi removido da origem, com cerca de 99% da atividade permanecendo nos últimos segmentos na corrida cromatográfica ($R_f = 0,5 - 1,0$).

$^{99m}\text{TcO}_2$ permaneceu na origem ($R_f = 0,0 - 0,1$) em todos os sistemas. No entanto, foi observada remoção da espécie da origem, no $R_f = 0,1 - 1,0$, superior a 5% nos sistemas de CCDI-SG e CCDAE-SG, CCD-SG (em 0,01M e 0,02M) e papel W1 (em 0,005M). Ainda assim, a remoção de $^{99m}\text{TcO}_2$ da origem nos sistemas decresceu à medida que a concentração de SDS na fase móvel foi elevada.

A **Tabela 13** relata o R_f das espécies nos sistemas de W1 com fase móvel de glicerol a 5%, 10% e 20%.

Tabela 13 - R_f das impurezas em sistemas de W1 com fase móvel de solução de glicerol.

Fase Móvel	Espécie Radioquímica	W1
		R_f (% Atividade)
Glicerol 5%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (98,1% \pm 0,4)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,7 - 1,0 (99,6% \pm 0,1)
Glicerol 10%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (91,5% \pm 0,4)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,8 - 1,0 (99,5% \pm 0,1)
Glicerol 20%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (88,2% \pm 1,0)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,8 - 1,0 (99,5% \pm 0,0)

Nos sistemas, as impurezas apresentaram comportamento similar ao observado em sistemas tradicionais. $^{99m}\text{TcO}_4^-$ foi removido da origem, com parcela da atividade superior a 99% permanecendo nos últimos segmentos na corrida cromatográfica ($R_f = 0,7 - 1,0$).

$^{99m}\text{TcO}_2$ permaneceu na origem ($R_f = 0,0 - 0,1$) em todos os sistemas. No entanto, houve remoção da impureza da origem superior a 5%, quando as soluções de glicerol 10% e 20%

foram empregadas como fase móvel. O sistema com fase móvel de glicerol a 5% apresentou remoção de 1,9% de $^{99m}\text{TcO}_2$ da origem.

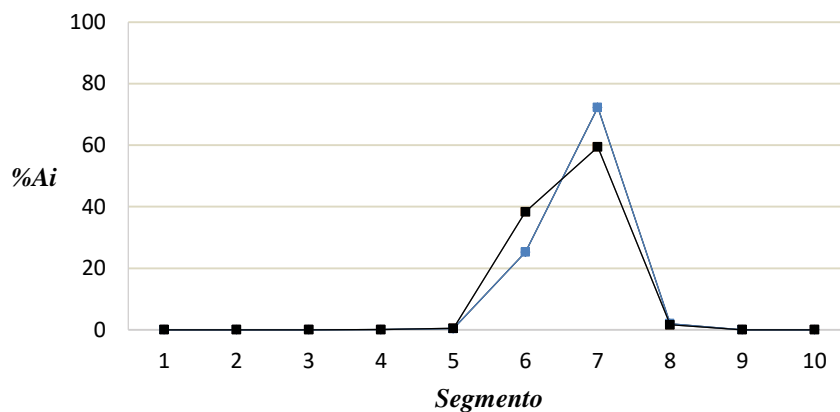
Na **Tabela 14** está relatado o R_f das impurezas em sistemas de papel W1 e W3MM com fases móveis de SDS a 0,005M, 0,01M, 0,02M, 0,03M e 0,04M em solução de glicerol a 5% como modificante:

Tabela 14 – R_f das impurezas em sistemas com fase móvel de SDS modificado com glicerol.

Fase Móvel	Espécie Radioquímica	W1	W3MM
		R_f (% Atividade)	
SDS 0,005M / glicerol 5%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (98,0% \pm 0,7)	0,0 - 0,1 (96,8% \pm 0,4)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,6 - 0,8 (99,8% \pm 0,0)	0,5 - 1,0 (99,8% \pm 0,1)
SDS 0,01M / glicerol 5%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (83,3% \pm 1,9)	0,0 - 0,1 (95,4% \pm 1,3)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,3 - 0,8 (99,9% \pm 0,3)	0,5 - 1,0 (99,8% \pm 0,0)
SDS 0,02M / glicerol 5%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (87,3% \pm 0,7)	0,0 - 0,1 (97,3% \pm 0,3)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,4 - 0,9 (99,9% \pm 0,0)	0,4 - 0,9 (99,9% \pm 0,0)
SDS 0,03M / glicerol 5%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (92,0% \pm 2,2)	0,0 - 0,1 (98,1% \pm 0,1)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,3 - 0,8 (99,9% \pm 0,0)	0,4 - 0,9 (99,9% \pm 0,0)
SDS 0,04M / glicerol 5%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (98,1% \pm 0,7)	0,0 - 0,1 (98,0% \pm 0,2)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,3 - 0,8 (99,9% \pm 0,0)	0,4 - 0,9 (99,9% \pm 0,0)
SDS 0,02M / glicerol 10%	$^{99m}\text{TcO}_2$	0,0 - 0,1 (88,3% \pm 0,7)	0,0 - 0,1 (96,6% \pm 0,2)
	$^{99m}\text{TcO}_4^-$	0,4 - 0,9 (99,9% \pm 0,0)	0,4 - 0,9 (99,9% \pm 0,0)

Nos sistemas, $^{99m}\text{TcO}_4^-$ também apresentou comportamento similar ao daqueles já relatados na literatura, sendo levado junto do fronte do solvente, com ao menos 99,8% da atividade nos R_f de 0,3 – 0,8 a 0,5 – 1,0. A **Figura 15** relata o perfil cromatográfico desenvolvido pela espécie radioquímica no sistema de W1 com SDS 0,04M em meio de glicerol a 5%.

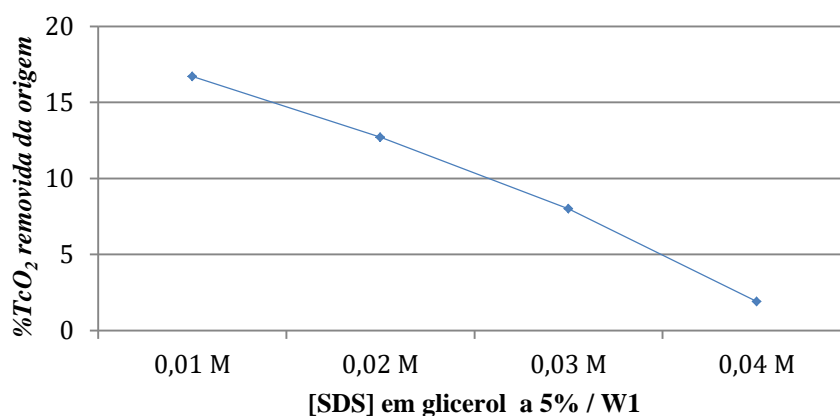
Figura 15 - Perfil de $^{99m}\text{TcO}_4^-$ em W1 / SDS 0,04M em meio de glicerol a 5%. Ensaio em duplicata.



Nos sistemas de papel W3MM, $^{99m}\text{TcO}_2$ permaneceu retido na origem ($R_f = 0,0 - 0,1$), demonstrando pouca remoção da espécie do ponto de aplicação, inferiores a 5%.

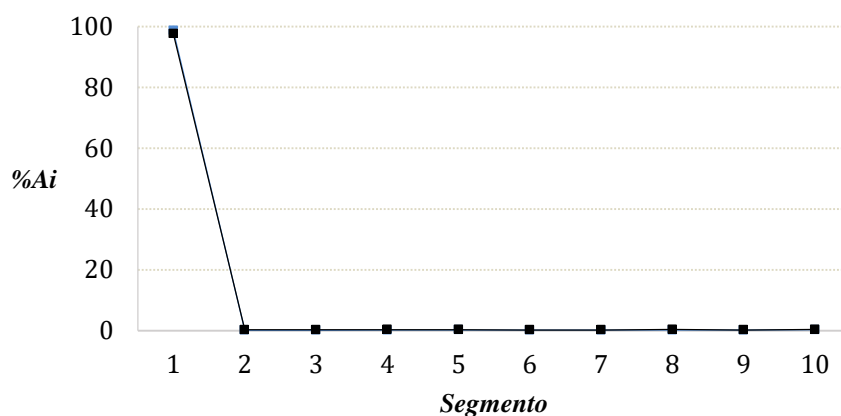
Nos sistemas de papel W1, houve remoção de $^{99m}\text{TcO}_2$ da origem superior a 5% nos sistemas com fase móvel de SDS 0,02M em meio de glicerol a 5% (11,7%) e SDS 0,01M, 0,02M e 0,03M em meio de glicerol a 5% (16,7%, 12,7% e 8%). No entanto foi observado que, com o aumento da concentração de SDS em solução, maior foi capacidade do sistema em manter $^{99m}\text{TcO}_2$ na origem, como relatado na **Figura 16**:

Figura 16 - Remoção de $^{99m}\text{TcO}_2$ da origem em sistemas de W1 com diferentes concentrações de SDS em solução de glicerol a 5%.



A solução de SDS 0,04M em meio de glicerol a 5% foi capaz de manter $^{99m}\text{TcO}_2$ na origem, com remoção de apenas 1,9% da atividade. A **Figura 17** relata o perfil cromatográfico desenvolvido pela espécie radioquímica no sistema.

Figura 17 - Perfil de $^{99m}\text{TcO}_2$ em W1 / SDS 0,04M em meio de glicerol a 5%. Ensaio em duplicata.



4.6. Determinação da pureza radioquímica de fitato de sódio (^{99m}Tc)

Dos sistemas avaliados, foram selecionados aqueles cuja remoção de fitato de sódio (^{99m}Tc) da origem ($R_f = 0,1 - 1,0$) se mostrou superior a 99%, ao mesmo tempo que permitiram a retenção de $^{99m}\text{TcO}_2$ na origem ($R_f = 0,0 - 0,1$) em ao menos 98%.

A **Tabela 15** relata os valores de pureza radioquímica (%*PRq*) obtidos através do uso dos sistemas de W1 com SDS 0,04M em glicerol a 5%, W3MM com SDS 0,03M em glicerol a 5% e W3MM com SDS 0,04M em glicerol a 5% para a quantificação de $\%^{99m}\text{TcO}_2$.

A $\%^{99m}\text{TcO}_4^-$ foi quantificada por meio do sistema de W3MM com acetona.

Tabela 15 - Valores de %*PRq* obtidos através dos sistemas cromatográficos selecionados.

Sistema	$\%^{99m}\text{TcO}_2$ ($R_f = 0,0-0,1$)	$\%^{99m}\text{TcO}_4^-$		Tempo de análise (min)
		W3MM / Acetona ($R_f = 0,6-0,9$)	% <i>PRq</i>	
W1 / SDS 0,04M em glicerol 5%	0,7%	0,1%	99,2%	50
W3MM / SDS 0,03M em glicerol 5%	0,7%	0,1%	99,2%	85
W3MM / SDS 0,04M em glicerol 5%	0,8%	0,1%	99,1%	85

Os valores de **%PRq** obtidos foram 99,2% para os sistemas cromatográficos de W1 com SDS 0,04M em glicerol a 5% e W3MM com SDS 0,03M em glicerol a 5% ($\%^{99m}\text{TcO}_2 = 0,7$ e $\%^{99m}\text{TcO}_4^- = 0,1$) e 99,1% para o sistema de W3MM com SDS 0,04M em glicerol a 5% ($\%^{99m}\text{TcO}_2 = 0,8$ e $\%^{99m}\text{TcO}_4^- = 0,1$), por meio da **Equação 2** para a pureza radioquímica:

$$\%PRq = 100 - (\%^{99m}\text{TcO}_2 + \%^{99m}\text{TcO}_4^-) \quad (2)$$

O tempo de desenvolvimento da corrida foi de 50 minutos no sistema de W1 e de 85 minutos nos sistemas de W3MM, configurando um impasse quanto à agilidade da análise, tendo em vista que o decaimento radioativo e estabilidade do radiofármaco após a marcação demandam que a administração ao paciente seja realizada o mais brevemente.

4.7. Avaliação colorimétrica

Após o desenvolvimento da corrida cromatográfica em sistema de W1 com SDS 0,02M em glicerol a 5%, o papel cromatográfico foi seco em estufa e borrifado com solução recém-preparada de tiocianato de ferro. A presença de fitato de sódio (^{99m}Tc) é evidenciada pela perda da cor do composto no papel, demonstrada na **Figura 18**.

Figura 18 - Revelação do fitato de sódio (^{99m}Tc) por meio de solução de FeSCN .



A revelação permitiu visualizar a posição do radiofármaco junto da frente do solvente (à direita), congruente à atividade observada nos perfis cromatográficos selecionados.

5. CONCLUSÃO

Foi demonstrado que soluções de SDS combinadas com glicerol podem ser utilizadas como fase móvel para a determinação da $\%^{99m}\text{TcO}_2$ em preparações de fitato de sódio (^{99m}Tc) por meio da cromatografia em papel. Os compostos apresentam comportamento sinérgico na separação do fitato de sódio (^{99m}Tc), aumentando a capacidade de migração do radiofármaco quando empregados em conjunto, em especial em concentrações superiores à CMC do tensoativo (0,008M), enquanto $^{99m}\text{TcO}_2$ permaneceu na origem cromatográfica.

Os sistemas de W1 e W3MM com fase móvel de SDS 0,04M em glicerol a 5% e W3MM com fase móvel de SDS 0,03M em glicerol a 5% para a determinação da $\%^{99m}\text{TcO}_2$, em paralelo com a determinação de $\%^{99m}\text{TcO}_4^-$ em sistema de W3MM com acetona, permitiram a quantificação da $\%PRq$, com valores superiores a 99%

O trabalho apresenta uma separação cromatográfica inédita entre o fitato de sódio (^{99m}Tc) e $^{99m}\text{TcO}_2$, além de propor a utilização de soluções tensoativas e glicerol na cromatografia planar para a determinação da pureza radioquímica, representando uma aplicação inédita na literatura. A possibilidade de empregar tensoativos, modificantes e outros solventes menos convencionais como fase móvel em ensaios de controle de qualidade radioquímico de radiofármacos traz novas perspectivas para as análises realizadas na rotina dos serviços de radiofarmácia e medicina nuclear.

Nesse cenário, SDS e glicerol também surgem como substâncias de manipulação fácil e segura, uma vez que contam com reduzido grau de agressividade química ao operador e ao ambiente, quando comparados a outros compostos utilizados como fase móvel nos ensaios de controle de qualidade radioquímico.

Referências

- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília: [s. n.], 2019. v. 2.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 738**, de 28 de julho de 2022.
- AL-JANABI, M. A. A; SHAFIG, Y.F. Radiochemical Quality Control of ^{99m}Tc -Phytate. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry: Letters**, [s. l.], v. 94, ed. 2, p. 101-108, 1985.
- ALAVI, A. *et al.* Technetium-99m Stannous Phytate as an Imaging Agent for Lymph Nodes. **The Journal of Nuclear Medicine**, [s. l.], v. 19, n. 4, p. 422-426, 1977.
- ÁNGEL, M. J. R. *et al.* New Insights and Recent Development in Micellar Liquid Chromatography. **Separation & Purification Reviews**, [s. l.], v. 38, p. 45-96, 2009.
- ARMSTRONG, D. W.; TERRIL, R. Q. Thin Layer Chromatographic Separation of Pesticides, Decachlorobiphenyl, and Nucleosides with Micellar Solutions. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 51, n. 13, p. 2160-2163, 1979.
- BAUZA, A. C. *et al.* A Simple and Rapid Colorimetric Method for Determination of Phytate in Urine. **Urological Research**, [s. l.], v. 40, p. 663-669, 2012.
- BRAMBILLA, T. P. **Desenvolvimento de Métodos para Marcação de DMSA Pentavalente com ^{99m}Tc e ^{188}Re** . Orientador: Dr. João Alberto Osso Júnior. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, [S. l.], 2009.
- CHOTKOWSKI, M.; CZERWINSKI, A. **Electrochemistry of Technetium**. Suíça: Springer, 2021.
- DECRISTOFORO, C. *et al.* Radiochemical Purity of Routinely Prepared $^{99\text{Tcm}}$ Radiopharmaceuticals: A Restrospective Study. **Nuclear Medicine Communications**, [s. l.], v. 21, p. 349-354, 2000.
- DEINSTROP, E. H. **Applied Thin-Layer Chromatography: Best Practice and Avoidance of Mistakes**. 2. ed. Alemanha: Wiley-VCH, 2007.

FARULLA, E. *et al.* Surface Active Agents in Paper Chromatography. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 12, p. 255-261, 1963.

FERNANDES, R. S. *et al.* ^{99m}Tc-Phytate as a Diagnostic Probe for Assessing Inflammatory Reaction in Malignant Tumors. **Nuclear Medicine Communications**, [s. l.], v. 36, p. 1042-1048, 2015.

FITA-TEC®: Pó liofilizado para solução injetável. Responsável técnico: Dra. Elaine Bortoleti de Araújo. São Paulo: IPEN. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 2020.

HABIB, A. *et al.* Glycerol as a Novel Green Mobile Phase Modifier for Reversed Phase Liquid Chromatography. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 169, 2021.

HABIB, A. *et al.* Glycerol as a New Mobile Phase Modifier for Green Liquid Chromatographic Determination of Ascorbic Acid and Glutathione in Pharmaceutical Tablets. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 219, 2022.

HOLMBERG, K. *et al.* **Surfactants and Polymers in Aqueous Solution**. 2. ed. [S. l.]: John Wiley & Sons, 2002.

HONG, J. K.; YAMANE, I. Thin Layer Chromatography of Inositol Phosphates and Inositol in Humic and Fulvic Acid Fractions. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, [s. l.], v. 26, n. 3, p. 391-397, 1980.

IAEA. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (Viena). **Technetium-99m Radiopharmaceuticals: Manufacture of Kits**. [S. l.: s. n.], 2008.

IAEA. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (Viena). **Technetium-99m Radiopharmaceuticals: Status and Trends**. [S. l.: s. n.], 2009.

JEON, Y. H. *et al.* Quality Control of Radiochemical Purity and Safety of ^{99m}Tc-HDP and ^{99m}Tc-Phytate Radiopharmaceuticals Labeling. **International Journal of Radiation Research**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 179-183, 2020.

KHAN, A. Phase Science of Surfactants. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 1, p. 614-623, 1996.

KROHN, K. A.; JANSOLT, A. L. Radiochemical Quality Control of Short-Lived Radiopharmaceuticals. **International Journal of Applied Radiation and Isotopes**, [s. l.], v. 28, p. 213-227, 1977.

LASKARIS, K. L. R. Quality Control in the Radiopharmacy. **Journal of Nuclear Medicine Technology**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 33-36, 1984.

LOCH, G. G. *et al.* Recuperação do Inventário Inicial em Cadeias de Decaimento Radioativo. **Proceeding Series of the Brazilian Society of Applied and Computational Mathematics**, [s. l.], v. 3, n. 1, 2015.

MAIOLI, C. *et al.* Evaluation of Different Counting Methods for Use in Radiochemical Purity Testing Procedures for ^{99m}Tc-Labeled Radiopharmaceuticals. **Applied Radiation and Isotopes**, [s. l.], v. 66, p. 556-559, 2008.

MALLOL, J.; BONINO, C. Comparison of radiochemical purity control methods for ^{99m}Tc Radiopharmaceuticals Used in Hospital Radiopharmacies. **Nuclear Medicine Communications**, [s. l.], v. 18, p. 419-422, 1997.

MAROLT, G.; KOLAR, M. Analytical Methods for Determination of Phytic Acid and Other Inositol Phosphates: A Review. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n. 174, 2021.

MARQUES, F. L. N. *et al.* Alguns Aspectos Sobre Geradores e Radiofármacos de Tecnécio-^{99m} e seus Controles de Qualidade. **Radiologia Brasileira**, [s. l.], v. 34, n. 4, p. 233-239, 2001.

MIRANDA, A. C. M. *et al.* Current Approach in Radiochemical Quality Control of the ^{99m}Tc-Radiopharmaceuticals: A Mini-Review. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [s. l.], v. 62, 2019.

MONTEIRO, E. G. **Estudo Comparativo entre Metodologias de Cromatografia Planar para Controle Radioquímico de Radiofármacos de Tecnécio-^{99m}**. Orientador: Dra. Margareth Mie Nakamura Matsuda. 2012. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear - Aplicações) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, [S. l.], 2012.

MOTA, L. G. *et al.* Evolving Role of Radiolabeled Particles in Detecting Infection and Inflammation: Preliminary Data with ^{99m}Tc -Phytate in Rats. **Nuclear Medicine Communications**, [s. l.], v. 36, p. 1113-1119, 2015.

NORONHA, O. D. P.; SEWATKAR, A.B. Comparison of Three RE Agents - ^{99m}Tc -Phytate, ^{99m}Tc -Sulfur Colloid and ^{99m}Tc -Sb₂S₃ Colloid in the Rodent Species. **Nuclear Medicine and Biology**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 67-73, 1986.

OGAWA, S. *et al.* Sentinel Node Detection with ^{99m}Tc Phytate Alone is Satisfactor for Cervical Cancer Patients Undergoing Radical Hysterectomy and Pelvic Lymphadenectomy. **International Journal of Clinical Oncology**, [s. l.], v. 15, p. 52-58, 2010.

PAPAGIANNOPOULOU, D. Technetium-99m Radiochemistry for Pharmaceutical Applications. **Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals**, [s. l.], v. 60, p. 502-520, 2017.

PAYOLLA, F. B. *et al.* Radiopharmaceuticals for Diagnosis in Nuclear Medicine: A Short Review. **Eclética Química Jornal**, [s. l.], v. 44, n. 3, p. 11-19, 2019.

POOLE, C. F.; DIAS, N. C. Practitioner's Guide to Method Development in Thin-Layer Chromatography. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 892, p. 123-142, 2000.

RIBEIRO, B. S. **Avaliação da Presença de ^{99}Mo em Eluatos de ^{99m}Tc em Serviços de Medicina Nuclear**. Orientador: Dr. Bernardo Maranhão Dantas. 2010. Dissertação (Mestrado em Biofísica das Radiações) - Instituto de Radioproteção e Dosimetria, [S. l.], 2010.

RUIZ, C. C. *et al.* Micellization of Sodium Dodecyl Sulphate in Glycerol Aqueous Mixtures. **Journal of Dispersion Science and Technology**, [s. l.], v. 29, p. 266-273, 2008.

SAHA, G. B. **Fundamentals of Nuclear Pharmacy**. 7. ed. Suíça: Springer, 2018.

SEWATKAR, A. B. *et al.* Aspects of the Radiopharmaceutics of ^{99m}Tc -Phytate. **Nuklearmedizin**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 46-51, 1975.

SIVAKUMARAN, K.; KOTHALAWA, S. An Overview of the Analytical Methods for Food Phytates. **International Journal of Chemical Studies**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 2016-2020, 2018.

SRIVASTAVA, S. C. *et al.* Problems Associated with Stannous ^{99m}Tc -Radiopharmaceuticals. **International Journal of Applied Radiation and Isotopes**, [s. l.], v. 28, p. 83-95, 1977.

TAVARES, M. G. M. *et al.* The Use of ^{99m}Tc -Phytate for Sentinel Node Mapping in Melanoma, Breast Cancer and Vulvar Cancer: A Study of 100 Cases. **European Journal of Nuclear Medicine**, [s. l.], v. 28, n. 11, 2001.

TECHNEPHYTE[®]: Powder for injection. CMR, Center of Molecular Research, s.d.

UMLONG, I. M.; ISMAIL, K. Micellization Behaviour of Sodium Dodecyl Sulphate in Different Electrolyte Media. **Colloids and Surfaces**, [s. l.], v. 299, p. 8-14, 2007.

WENNERSTRÖM, H.; LINDMAN, B. Micelles: Physical Chemistry of Surfactant Association. **Physics Reports**, [s. l.], v. 50, n. 1, p. 1-86, 1979.

ZIMMER, A. M.; PAVEL, D. G. Rapid Miniaturized Chromatographic Quality-Control Procedures for Tc- 99m Radiopharmaceuticals. **Journal of Nuclear Medicine**, [s. l.], v. 18, p. 1230-1233, 1977.

ZOLLE, I. **Technetium- 99m Radiopharmaceuticals**: Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine. Berlim: Springer, 2007.

Vicenzo San Felipe

Vicenzo San Felipe Couri

18/10/2024

Margareth M. Nakamura Matsuda

Dra. Margareth Mie Nakamura Matsuda

18/10/2024