



PLANO DE TRABALHO

PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOCTORADO – EDITAL 6

Nome do(a) Bolsista: Arian Perez Nario

Código do Projeto vinculado: 2020.06.IPEN.08.PD

DESCRIÇÃO DO PROJETO

Título do Projeto

Desenvolvimento de um sistema microfluídico por microusinagem com laser de femtossegundos para a síntese de radiofármacos com ^{18}F de alta atividade molar

Prazo Execução (meses): 24

Objetivo Geral

Desenvolver um dispositivo microfluídico que integre todas as etapas de radiosíntese em um único chip. Este novo sistema permitirá uma maior concentração do radioisótopo ^{18}F (a fim de melhorar a cinética da reação) o que levará à produção de radiofármacos com uma maior atividade molar. Para isso, o novo sistema microfluídico será produzido com a técnica de microusinagem por laser de pulsos ultracurtos, incorporando microcartucho de troca iônica, e loop de mistura e secagem. Será feita uma comparação direta entre o desempenho de radiomarcagem utilizando este novo sistema microfluídico e o método convencional

Objetivos Específicos

Construção das microcolunas de troca iônica.

Construção do loop microfluídico de mistura e secagem.

Sintetizar o radiofármaco ^{18}F -FDG de forma convencional

Sintetizar o radiofármaco ^{18}F -FDG no sistema microfluídico

Realizar os controles de qualidade e cálculos de atividade molar dos radiofármacos produzidos pelo método convencional e comparação com sistema microfluídico

Avaliar a atividade biológica dos radiofármacos produzidos pelo método convencional e comparação com sistema microfluídico

Palavras-chave

1 - Laser

2 - Sistema microfluídico

3 - Radiofármacos

4 - ^{18}F -FDG

5 - Tomografia por Emissão de Pósitrons

Metas Físicas

1 - Construção da microcoluna de troca iônica QMA para um sistema microfluídico

2 - Desenvolver o sistema de secagem e operação do loop microfluídico

3 - Sintetizar o radiofármaco ^{18}F -FDG no sistema microfluídico e comparar o resultado obtido com o método convencional

4 - Avaliação biológica "in vitro" pelo método convencional e comparação com sistema microfluídico



PLANO DE TRABALHO

PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOCTORADO – EDITAL 6

5 -Avaliação biológica "in vivo" pelo método convencional e comparação com sistema microfluídico

Justificativa Resumida:

A radiomarcagem de moléculas utilizando o sistema microfluídico tem chamado a atenção nos últimos anos devido à possibilidade de otimização de diversos fatores quando comparados aos métodos convencionais de radiomarcagem. Entre eles, o sistema microfluídico oferece a capacidade de manipular pequenos volumes, atenuando os problemas associados aos efeitos de diluição. Permite uma mistura eficiente dos reagentes que melhora a cinética da reação. Este sistema tem a capacidade de controle preciso sobre as condições de reação, como concentrações, temperatura, permitindo uma radiomarcagem confiável e reproduzível. Além disso, por ser um sistema com menor tamanho, reduz drasticamente o volume que requer de blindagem. Dessa forma, o desenvolvimento de um dispositivo microfluídico que inclua a concentração do radioisótopo ^{18}F no início da reação de síntese irá melhorar a cinética da reação permitindo a produção de radiofármacos com uma maior atividade molar.

CRONOGRAMA FÍSICO

META FÍSICA 1 - Construção da microcoluna de troca iônica QMA para um sistema microfluídico

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Produção e operação de válvulas peneira	Produzida	1	6
Construção da microcoluna completa de troca iônica	Construída	1	6
Ensaio com fluxos de reagentes na microcoluna	Ensaio Feito	1	6
Teste da coluna usando o ^{18}F -Fluoreto obtido no ciclotron	Teste Feito	3	8
Avaliar a eficiência da eluição do ^{18}F -Fluoreto da coluna	Teste Feito	3	8

META FÍSICA: 2 - Desenvolver o sistema de secagem e operação do loop microfluídico

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Desenvolvimento de uma microbomba	Desenvolvida	4	9
Desenvolvimento de um sistema de aquecimento controlado	Desenvolvido	4	9
Construção e operação do loop microfluídico	Construído	6	10
Ensaio com fluxos de reagentes no loop microfluídico	Teste Feito	6	10
Teste do sistema usando o ^{18}F -Fluoreto obtido no ciclotron	Teste Feito	8	12



PLANO DE TRABALHO

PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOUTORADO – EDITAL 6

META FÍSICA: 3 - Síntetizar o radiofármaco 18F-FDG no sistema microfluídico e comparar o resultado obtido com o método convencional

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Montagem e testes do sistema microfluídico completo	Montado	10	16
Síntetizar o radiofármaco 18F- FDG no sistema microfluídico	Síntetizado	14	20
Síntetizar o radiofármaco 18F- FDG de forma convencional	Síntetizado	14	16
Controles de qualidade para determinar a pureza radioquímica, atividade molar e confirmar a identidade química usando os dois métodos	Controles Feitos	14	20
Cálculo da atividade molar obtida usando os dois métodos	Cálculo Feito	18	20

META FÍSICA: 4 - Avaliação biológica "in vitro" pelo método convencional e comparação com sistema microfluídico

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Cultura celular	Células prontas	18	20
Produção de nanopartículas de magnetita (Fe ₃ O ₄)	Produzidas	18	20
Adsorção de nanopartículas de magnetita na superfície das células	Estudo Feito	20	22
Ensaio de microscopia de fluorescência	Estudo Feito	20	22

META FÍSICA: 5 - Avaliação biológica "in vivo" pelo método convencional e comparação com sistema microfluídico

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Biodistribuição do radiofármaco em camundongos	Estudo Feito	21	24
Imagem PET/CT usando diferentes tempos de aquisição	Estudo Feito	21	24
Ensaio de citotoxicidade	Estudo Feito	22	24

Resultados Esperados

1 -Desenvolvimento de uma microcoluna de troca iônica aplicável à otimização da produção de radiofármacos

2 -Padronizar a secagem do 18F-Fluoreto usando um sistema microfluídico

3 -Otimização de diversos fatores na radiomarcagem de moléculas através da microfluídica, quando comparados aos métodos convencionais

4 - Desenvolvimento e validação dos scripts de análise de bolhas do projeto de upgrade do sistema de visão ESOS (Embedded Supervisory Optical System)

5 -Oferecer a capacidade de manipular pequenos volumes, atenuando os problemas associados aos efeitos de diluição

6 - Ter a capacidade de controle preciso sobre as condições de reação, como concentrações, temperatura, permitindo uma radiomarcagem confiável e reproduzível



PLANO DE TRABALHO

PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOUTORADO – EDITAL 6

7 - Geração de radiofármacos marcados com ^{18}F de alta atividade específica

8 - Aumento da produção final de ^{18}F -FDG

9 - Avaliação biológica "in vitro" superior ao método convencional

10 - Avaliação biológica "in vivo" superior ao método convencional

Grau de Inovação (se houver):

- A otimização de diversos fatores na radiomarcagem de moléculas através da microfluídica, quando comparados aos métodos convencionais.
- Desenvolvimento de misturadores microfluídicos para otimização de misturas de reagentes para melhoria de cinética de reação.
- Desenvolvimento de componentes microfluídicos específicos para síntese de radiofármacos.
- Aumento da concentração de ^{18}F na síntese de radiofármacos.
- Geração de radiofármacos marcados com ^{18}F de alta atividade específica
- Aplicação do sistema microfluídico desenvolvido a outros radiofármacos marcados com ^{18}F

Bibliografia:

- Amorim, B. J.; Cerci, J.; De Araújo, E. B.; Kubo, T.; Nogueira, S.; Rivera, M. Guideline para PET/CT FDG-18F. Disponível em: <https://sbmn.org.br/wp-content/uploads/2016/04/Guideline-PET-CT-FDG-18F.pdf>. Acesso em: 18 set. 2020.
- Cai L, Lu S, Pike VW. Chemistry with [18F] fluoride ion. *European Journal of Organic Chemistry*. 2008; 17: 2853-2873.
- De Carvalho, L. R.; Perez Vieira, D. Evaluation of genotoxic potential of peptides used in nuclear medicine (PSMA -617 and -11, and Ubiquidine 29-41) using a flow-cytometric, semi-automated analysis of micronuclei frequency in cell cultures. *Toxicology Reports*, v. 7, n. February, p. 304–316, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214750019306122>
- Deda, D. K.; Cardoso, R. M.; Uchiyama, M. K.; Pavani, C.; Toma, S. H.; Baptista, M. S.; Araki, K. A reliable protocol for colorimetric determination of iron oxide nanoparticle uptake by cells. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 409, n. 28, p. 6663–6675, 2017.
- Elsinga PH. Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. *Methods*. 2002; 27(3):208-217.
- Gomes, A A. “Desenvolvimento de um circuito microfluídico para análise atmosférica através de microusinagem com laser de pulsos ultracurtos”. Dissertação de Mestrado do IPEN orientada por Wagner de Rossi. 2020.
- Herrera, C C; “Desenvolvimento e controle de sistemas microfluídicos”, tese de doutorado orientada por Wagner de Rossi. 2018.
- Javed MR, Chen S, Kim H-K, Wei L, Czernin J, Kim C-JC, et al. Efficient Radiosynthesis of 3'-Deoxy-3'-18F- Fluorothymidine Using Electrowetting-on-Dielectric Digital Microfluidic Chip. *Journal of Nuclear Medicine*. 2013;55(2):321–8.
- Keng PY, Dam RMV. Digital Microfluidics: A New Paradigm for Radiochemistry. *Molecular Imaging*. 2015;14(12).
- Knapp K-A, Nickels ML, Manning HC. The Current Role of Microfluidics in Radiofluorination Chemistry. *Molecular Imaging and Biology*. 2019;22(3):463–75.
- Lee, C C, Multistep Synthesis of a Radiolabeled Imaging Probe Using Integrated Microfluidics, *Science* 2005- 310, 1793.
- Ocampo, I. Z.; De Queiroz Souza Passos, P.; Ramirez De Carvalho, L.; Lira Da Cruz, C. A.; Esteves-Pedro, N. M.; Medeiros Da Silva, F.; Higa, O. Z.; Dias, L. A. P.; Okazaki, K.; Vieira, D. P. In vitro cytotoxic and genotoxic evaluation of peptides used in nuclear medicine (DOTATATE and Ubiquidin 29-41) in CHO-K1 cells. *Cytotechnology*, v. 68, n. 6, p. 2301–2310, 2016.
- Rahmim A, Zaidi H. PET versus SPECT: strengths, limitations and challenges. *Nuclear Medicine Communications*. 2008; 29(3):193-207.
- Rensch C, Jackson A, Lindner S, Salvamoser R, Samper V, Riese S, et al. Microfluidics: A Groundbreaking Technology for PET Tracer Production? *Molecules*. 2013;18(7):7930–56.
- Snyder, W. S.; Cook, M. J.; Nasset, E. S.; Karhausen, L. R.; Parry Howells, G.; Tipton, I. H. ICRP report of the task group on reference man. [S.l.: s.n.], 1985. v. 12. 251 p. Steinbacher J L, Mcquade D T, Polym J. Sci. Part A: Polym. Chem., 2006.
- Stieb S, Guckenberger M, Riesterer O, Eleftheriou A, Warnock G. Longitudinal PET imaging of tumor hypoxia during the course of radiotherapy. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2018; 45(5):1–17.
- Vallabhajosula S. 18F-Labeled Positron Emission Tomographic Radiopharmaceuticals in Oncology: An Overview of Radiochemistry and Mechanisms of Tumor Localization. *Seminars in Nuclear Medicine*. 2007; 37(6): 400-19.
- Wang, M. W., Lin, W.Y., Liu, K., Masterman-Smith, M., Shen, C.K.F., Microfluidics for Positron Emission Tomography Probe Development, *Mol Imaging*, 9 (2010) 175-191.