

# Validação de Metodologia Analítica por CLAE para Otimização do Controle de Qualidade do FDG-18

Renata Lins Carneiro Leão e Mércia Liane de Oliveira  
Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste- CRCN/NE

## INTRODUÇÃO

O 2-[18]Flúor-desoxi-D-glicose (FDG-18) é o radiofármaco emissor de pósitrons mais utilizado mundialmente em exames PET.

Possui relevância e alta especificidade no diagnóstico precoce de tumores malignos, assim como grande aplicação em cardiologia e neurologia [1].

Na DIPRA (Divisão de Produção de Radiofármacos), foi implantada uma metodologia analítica por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), descrita por Kozirowski [2], capaz de realizar simultaneamente duas análises realizadas no Controle de Qualidade (CQ) do FDG-18: a pureza química e a determinação de solventes residuais, que antes eram realizadas por duas técnicas diferentes, respectivamente, CLAE e cromatografia gasosa (CG).

A nova metodologia além de reduzir o número de análises do CQ, quantificando tanto os analitos glicose, FDG e FDM (pureza química) como etanol e acetonitrila (solventes residuais), possui a vantagem de utilizar apenas água ultrapura como fase móvel.

Porém, a metodologia possui a desvantagem de um elevado tempo de análise (50 min), visto que o fluxo da fase móvel máximo atingido é 0,33 mL/min.

O aumento da temperatura de trabalho, com a utilização de um forno aquecedor de coluna cromatográfica, como sugerido por Kozirowski[2], permite o aumento do fluxo da fase móvel e consequente diminuição do tempo de análise.

## OBJETIVO

O objetivo desse trabalho é aprimorar a metodologia implantada com a utilização de um forno para coluna cromatográfica, possibilitando o aumento do fluxo para 0,6 mL/min e consequente diminuição no tempo de análise para 30 min. Posteriormente, deve-se prosseguir com a validação da metodologia, verificando os parâmetros: linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD) e quantificação (LQ).

## METODOLOGIA

Foi utilizado um cromatógrafo a líquidos (Agilent 1200), com detectores de radioatividade e de índice de refração, e coluna cromatográfica Rezex RHM-Monosaccharide H, 7,80 mm x 300 mm (Phenomenex, Dinamarca). A fase móvel utilizada foi água ultrapura e o volume da amostra injetada foi de 20 µL. A temperatura de trabalho foi 80°C, utilizando um fluxo de 0,6 mL/min, em 30 minutos de análise. Para a determinação da linearidade, foi analisada uma curva, contemplando 5 níveis de concentração, abrangendo de 60 a 140% da concentração teórica do teste.

A precisão do método foi avaliada em dois níveis: a precisão intradia, realizada no mesmo dia, e a precisão intermediária, realizada em 3 dias diferentes. A precisão e a exatidão foram observadas avaliando-se 3 níveis de concentração (baixa, média e alta) dos analitos e com 3 repetições autênticas cada, totalizando 9 determinações. Os valores do LD e LQ basearam-se na relação de 2 a 3 vezes o ruído da linha de base para o LD e de 5 vezes para o LQ.

## RESULTADOS

As médias dos resultados da validação estão representadas na TABELA 1, destacando em vermelho os valores

encontrados fora das especificações da ANVISA.

**TABELA 1. Média dos Resultados da Validação da Metodologia Analítica por CLAE.**

	Linearidade (R <sup>2</sup> )	Precisão Intradia (CV%)	Precisão Intermediária (CV%)	Exatidão (%)	LD (mg/mL)	LQ (mg/mL)
Glicose	0,997	5,71	11,72	100,34	0,168	0,255
FDG	0,997	3,19	2,44	97,79	0,019	0,029
FDM	0,997	20,95	20,47	124,90	0,118	0,179
Acetonitrila	0,993	7,59	11,65	93,03	0,054	0,082
Etanol	0,998	3,82	4,88	126,96	0,016	0,024

O flúor ligado à manose (FDM) apresentou erros de pesagem, visto que, para o preparo das soluções padrões foi utilizada uma balança de sensibilidade baixa para medir, com precisão, a massa desse analito. A acetonitrila (solvente residual), por outro lado, demonstrou falha na sua resolução, tendo a sua quantificação comprometida pela interferência com o pico do etanol.

## CONCLUSÕES

A metodologia não foi validada, pois apresentou valores fora das referências para a precisão (CV% máximo de 5%). Com base nesses resultados, foi concluído que a sensibilidade da balança utilizada no preparo das soluções, não foi suficiente para pesar, com precisão, o FDM e que a resolução baixa da acetonitrila interferiu na sua quantificação. Para isso, foi sugerido modificações na metodologia, como a redução do fluxo da fase móvel para 0,5 mL/min, a redução da temperatura da

coluna cromatográfica para 30°C e a utilização de uma balança com maior resolução no preparo das soluções padrões. Como parâmetros da metodologia foram alterados, será necessária a repetição de todos os ensaios realizados na validação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Araujo, E.B.; Lavinhas, T.; Colturato, M.T.; Mengatti, J., Garantia da Qualidade aplicada a produção de radiofármacos. RBCF, vol. 44, n. 1, jan/mar., 2008.

[2] Kozirowski, J., A simple method for the quality control of [18F]FDG. **Applied Radiation and Isotopes** 68 (2010) 1740–1742.

## APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

Os autores agradecem ao CNPq e a CNEN pelo apoio financeiro ao projeto.