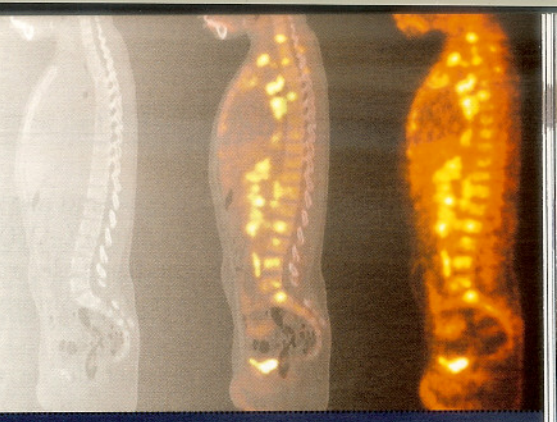
8 capítulo



Neuza Taeko Okasaki Fukumori
Marycel Figols de Barboza

Síntese de FDG-^{18}F e Produção de Na-^{18}F

SÍNTESE DE FDG-^{18}F

A aplicação clínica do exame PET/CT com FDG-^{18}F em diferentes doenças vem sendo estudada desde o início da década de 80. Inicialmente, seu uso era restrito, devido à pouca disponibilidade mundial de FDG-^{18}F e de equipamentos específicos para imagens[2].

Por mais de três décadas, o flúor-18 é utilizado em diferentes formas químicas inorgânicas como um traçador para estudos experimentais envolvendo uma variedade de órgãos. Desde a introdução, em 1977, de 2-flúor-2-deoxi-D-glicose-^{18}F (FDG-^{18}F) por Ido e colaboradores, esse composto tem proporcionado uma ferramenta eficaz nos estudos do metabolismo da glicose, juntamente com o exame PET (do inglês *Positron Emission Tomography*), em cardiologia, neurologia e oncologia, assim como em pesquisa[2, 3].

A primeira síntese de FDG-^{18}F e a primeira aplicação em humanos ocorreram em 1976, resultado da colaboração dos pesquisadores da Universidade de Pensilvânia (*National Institute of Health*) e do *Brookhaven National Laboratory (Long Island)*, onde foi realizada a síntese e enviada via aérea ao aeroporto de Filadélfia. Posteriormente, as instituições ou centros de medicina nuclear com ciclotron iniciaram a produção de FDG-^{18}F para uso próprio. Após 25 anos, a produção e a distribuição a locais distantes ou afastados do centro produtor deram conta de suprir a necessidade deste radiofármaco.

A molécula FDG-^{18}F foi desenhada após a marcação de 2-deoxi-glicose (2-DG) com C-14 (C-2-DG-14). A 2-DG é um derivado da glicose na qual o grupo hidroxil (–OH) do C-2 é substituído por um átomo de H (Figura 8.1).

O comportamento biológico da 2-DG é similar ao da glicose, com algumas diferenças. É transportada dentro do cérebro, via fosforização, pela hexoquinase. Nessa etapa, o grupo (–OH) substituído pelo hidrogênio no C-2 não influencia no processo. Entretanto, em contras-

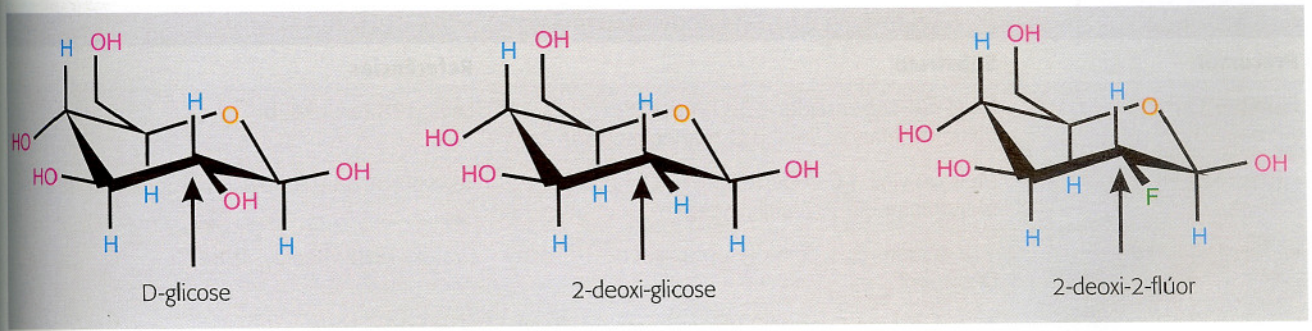


Figura 8.1 ▶ Estrutura da D-glicose; 2-DG (2-deoxi-glicose) e 2-FDG (2-deoxi-2-flúor-glicose), ilustrando modificação no C-2.

te com a glicose, o metabolismo não prossegue além da fosforização, devido ao grupo (–OH) ser indispensável na etapa seguinte. Como resultado, a 2-deoxi-D-glicose-6-fosfato é captada na célula, comprovando a evidência do metabolismo[4, 19].

A transferência do método de marcação de C-2-DG-14 para humanos requer que a 2-DG seja marcada com um isótopo, cuja propriedade química e posição na estrutura da deoxiglicose não alterem significativamente as propriedades bioquímicas, biológicas e de transporte. Esse processo pode ser obtido pelo método de substituição isotópica entre o C estável da molécula de 2-DG com um radioisótopo, tal como ^{11}C ou ^{18}F. O ^{18}F[4, 19] foi o isótopo de escolha, devido não somente à forte ligação C-F, mas também pelas características físicas adequadas, da meia-vida (t ½ de 110 minutos) que permite enviar a locais distantes do centro produtor.

O esquema da marcação de 2-DG com ^{18}F demanda a substituição do átomo de C por ^{18}F, preservando as propriedades da mesma. A escolha do ^{2}C ou de outro átomo de carbono na molécula pode ser modificada sem interferir com os requisitos de transporte, que permitem atravessar a barreira sanguínea cerebral ou a reação com a hexoquinase. Portanto, é conveniente assumir que a 2-flúor-2-deoxi-D-glicose-^{18}F (FDG-^{18}F) não pode ser substrato da **fosfo-hexose** isomerase[4, 22] (Figura 8.2).

Vários métodos de sínteses de FDG-^{18}F foram relatados na literatura (Tabela 8.1). O método de Adam-

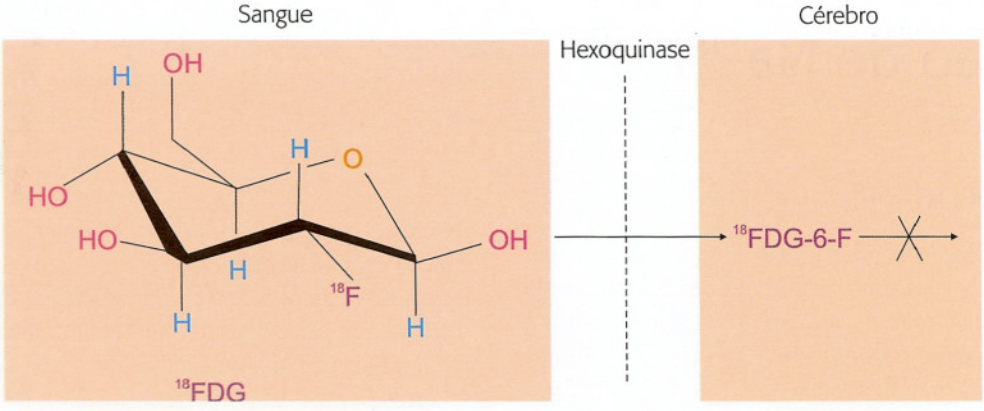


Figura 8.2 ▶ Transporte de FDG-^{18}F através da barreira sanguínea cerebral.

Tabela 8.1 ▶ Rotas de síntese de FDG-^{18}F (1976 – 1986).

Método eletrofílico		
Precursor	Substrato	Referências
$[^{18}F]F_2$	3, 4, 6-tri-O-D-glucal	Ido, 1978
$[^{18}F]F_2 \rightarrow CH_3CO_2[^{18}F]$	3, 4, 6-tri-O-D-glucal	Shiue, 1982; Adam, 1982; Diksic & Jolly, 1983
$[^{18}F]F_2 \rightarrow CH_3CO_2[^{18}F]$	D-glucal	Ehrenkaufer, 1984; Jewett, 1984
$[^{18}F]F_2 \rightarrow [^{18}F]XeF_2$	3, 4, 6-tri-O-acetil-D-glucal	Shiue, 1983; Sood, 1983
Método nucleofílico		
Precursor	**Substrato**	**Referências**
$H[^{18}F] \rightarrow Cs[^{18}F]$	Metil-4,6-O-benzilidene-3-O-metil-2°-trifluorometanosulfonil-β-D-manopiranoside	Levy, 1982a, 1982b
$H[^{18}F] \rightarrow Et_2N[^{18}F]$	Metil ou vinil 4,6-O-benzilidine-α-D-manopiranodie 2, 3-sulfato cíclico	Tewson, 1983a, b; Tewson & Soderlind, 1985
$H[^{18}F] \rightarrow KH[^{18}F]F_2$	1, 2-anhidro-3, 4, 5, 6-di-isopropilidene-1-C-nitro-D-manitol	Szarek, 1982; Beeley, 1984
$H[^{18}F] \rightarrow K[^{18}F]$ Kryptrofix	1, 2, 4, 6-tetra-O-acetil-2-trifluorometanesulfonil-β-D-manopiranoside	Hamacher, 1986

son (1970) envolve a fluorinação eletrofílica de 3, 4, 6 triacetilglucal com o reativo trifluormetil hipofluoreto (CF_3OF), o qual serviu de base para a síntese utilizada por Ido (1978). A outra síntese acessível envolve o uso de bifluoreto de potássio (KHF_2) na reação nucleofílica (Packat, 1969). Outros baseados na substituição do grupo 4,6-*O*-benzilidina-3-*O*-metil-2-*O*-trifluormetanosulfonil-β-D-manopiranose da manose (triflate) pelo fluoreto-^{18}F têm um rendimento de aproximadamente 30%. Entretanto, a dificuldade em remover o grupo metil da posição 3-*O*- reduz significativamente o rendimento (~10%). O método desenvolvido por Tewson e colaboradores permite uma incorporação do ^{18}F (fluoreto) no composto cíclico sulfuril (90%), mas com uma redução no rendimento de síntese de aproximadamente 40% ou menos na etapa de hidrólise do glicosídeo.

Esses ensaios apontaram os principais fundamentos para o desenvolvimento da síntese do FDG-^{18}F para estudos do metabolismo cerebral em humanos. Os resultados direcionaram as pesquisas a investigar rotas alternativas de síntese, com o objetivo final de obter altos rendimentos radioquímicos, assim como uma redução do tempo e da complexidade do sistema de síntese. A finalidade dos estudos foi o uso de triflate como precursor e do complexo de um amino poliéter (Kriptofix) [K/2.2.2]$^{+}$^{18}F^{-} como catalisador na fase de transferência (Figura 8.3)[8]. Esse complexo permite uma fluorinação nucleofílica eficiente e leve, num nível livre de carregador n.c.a. (do inglês *no-carrier-added*). Uma das metas tem sido aperfeiçoar a remoção do 2.2.2 Kriptofix, que é utilizado para facilitar a reação de deslocamento, assim como a sua detecção no produto final. O método mais simples para reter Kriptofix é a fixação em filtro contendo uma resina catiônica (*Sep-Pack*) na etapa anterior à da purificação[8, 9, 10].

Uma produção em grande escala requer o manuseio de altas atividades para produzir quantidades suficientes do produto final (FDG-^{18}F). Existem vários métodos já estabelecidos para produção em alta escala. O método manual sem adequada proteção, inevitavelmente, aumenta a taxa de exposição do operador. No método semiautomático e nos procedimentos de síntese totalmente automatizados adequados para uma produção, as vantagens são: alta pureza do produto final, redução do tempo de síntese e diminuição da taxa de exposição ao operador. Tem havido um aumento considerável na comercialização de módulos automáticos para síntese de FDG-^{18}F, que permitem uma produção em alta escala para uso clínico, segura, eficiente e reprodutível[23, 12].

Produção de FDG-^{18}F no IPEN – CNEN/SP

Acompanhando o cenário internacional e a demanda da classe médica brasileira, o Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares e a Comissão Nacional de Energia Nuclear (IPEN – CNEN/SP) programaram a produção de FDG-^{18}F com a compra de um módulo de síntese e a instalação de um ciclotron (Cyclone-30; IBA). Os primeiros testes foram iniciados em novembro de 1997 e o radioisótopo tornou-se comercialmente disponível em 1998. Isso propiciou a possibilidade da aplicação do método em nosso meio com o horizonte da crescente demanda nos anos seguintes.

Após a instalação do primeiro módulo de síntese IBA, com a colaboração do Dr. Jochen Knust, da Universidade de Essen, Alemanha, teve início a validação do processo de produção e de controle de qualidade. No decorrer de 1998 e 1999, foram enviadas amostras a hospitais e clínicas de medicina nuclear, num total de 113.960 e 432.382 MBq de FDG-^{18}F, com uma média de 4.543,23 e 7.200 MBq/lote em 1998 e 1999, respectivamente[30, 31].

Em janeiro de 2003, foi instalado um novo módulo IBA, adquirido pela Fundação Antonio Prudente – Hospital do Câncer. A produção, que antes era de dois lotes por semana, com a chegada do novo módulo aumentou para quatro, a fim de atender à demanda[31].

Entretanto, instalados os dois módulos de síntese de FDG-^{18}F da IBA, a média de atividade obtida em MBq/lote de FDG-^{18}F no primeiro semestre de 2003 era somente de 18.500 MBq. Cabe ressaltar, também, que os reagentes do módulo IBA-2 eram fornecidos em forma de kits prontos

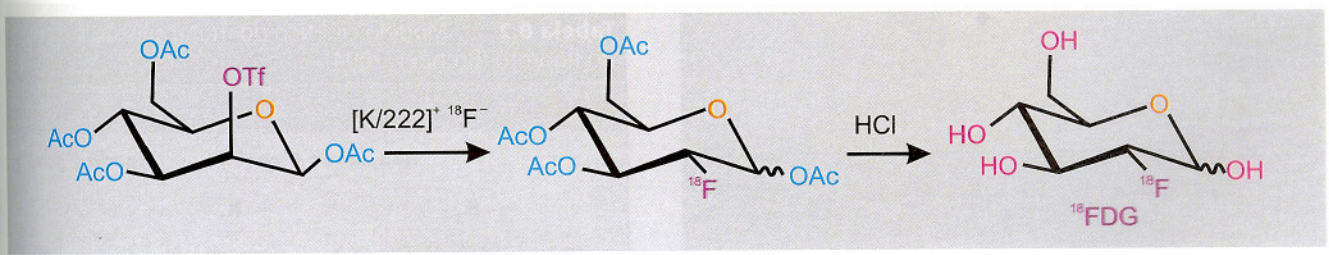


Figura 8.3 ▶ Síntese de FDG-^{18}F (Hamacher e col., 1986).

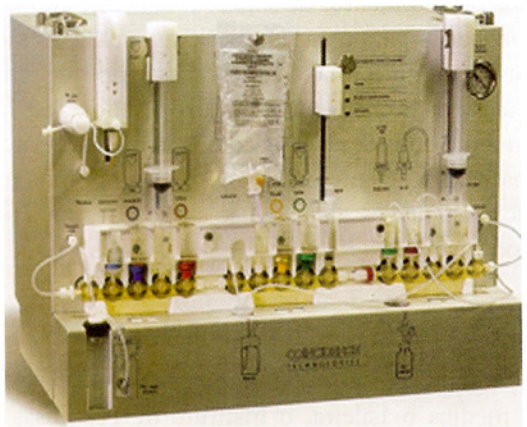


Figura 8.4 ▶ Módulo de síntese de FDG-^{18}F.

para uso, o que dispensava o trabalho de preparo de cada reagente e o acessório para a síntese realizada no módulo IBA-1. O tempo de síntese de ambos era de 55 minutos. O módulo GE (*GE TRACERlab MX$_{FDG}$ Synthesizer Module*), comprado pela Fundação Zerbini, do Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas de São Paulo, foi instalado em outubro de 2004 (Figura 8.4).

O método de substituição nucleofílica, combinado com a rápida hidrólise básica da manose acetilada, permite a obtenção de um produto final puro em apenas 25 minutos. Em 57 produções durante o ano de 2006, usando uma corrente integrada de prótons de (60,70±1,9) μAh, as atividades de $^{18}F^{-}(A_0)$ e FDG-$^{18}F(A_{FDG})$ obtidas foram de (183.409±11.063) MBq/lote e (72.002±6.919) MBq/lote, respectivamente. A pureza radioquímica e radionuclídica do produto final FDG-^{18}F é > 99% (Figura 8.5), estéril e apirogênica. O nível de Kriptofix detectado pelo método de spot teste é menor que o limite de 50μg /ml, de acordo

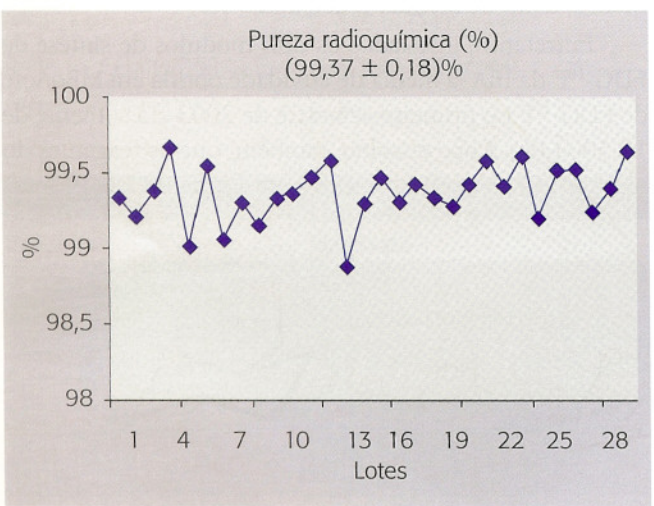


Figura 8.5 ▶ Pureza radioquímica de FDG-^{18}F (nº 30).

a recente revisão do FDA, assim como os níveis de acetonitrila[30, 31].

Atualmente, a Diretoria de Radiofarmácia (DIRF) do IPEN – CNEN/SP conta com três Módulos de Síntese da marca GE para a produção rotineira FDG-^{18}F. A produção ocorre de segunda a sexta-feira, de duas a três vezes ao dia. Durante o ano 2007, foram distribuídas 8.085 doses a centros e hospitais de medicina nuclear em São Paulo, Campinas e outros estados (Rio de Janeiro; Belo Horizonte; Curitiba; Brasília; Goiânia; Salvador e Vitória).

PRODUÇÃO DE Na-^{18}F (FLUORETO DE SÓDIO)

O radioisótopo emissor de pósitron ^{18}F (fluoreto) tem uma longa história como radiofármaco do sistema ósseo. Decai por emissão β^+, com uma meia-vida de 110 minutos. Os principais fótons utilizados na obtenção de imagens são de 511 keV, resultado da interação ou aniquilação do pósitron emitido e de um elétron.

Após a sua introdução na medicina nuclear por Blau, na década de 60, e sua aprovação para uso clínico pelo FDA (*Food and Drug Administration*), em 1972, o íon F^{-18} (fluoreto) tornou-se um agente eficaz nas cintilografias ósseas até o desenvolvimento, na década de 70, dos compostos fosfonados marcados com Tc-99m[1].

Durante décadas, antes da introdução na medicina nuclear do moderno sistema PET, o Na-^{18}F foi reconhecido como um radiofármaco ideal para imagem do sistema ósseo. Esse composto tem características adequadas pela alta e rápida captação óssea, acompanhada pelo rápido clareamento sanguíneo, que resultam numa alta relação osso/background em um curto intervalo de tempo[5, 6].

O ^{18}F (fluoreto) é incorporado no tecido ósseo em cerca de 50%, pelo intercâmbio com o íon hidroxil da hidroxiapatita. O remanescente é distribuído no fluido extracelular e eliminado inalterado via renal (20%) em 2 horas, não se observando ligação com as proteínas plasmáticas[26, 27] (Tabela 8.2).

O ^{18}F é extraído do plasma na proporção da perfusão óssea, seguido de um processo fisiológico bem descrito, permitindo realizar estudos quantitativos do esqueleto

Tabela 8.2 ▶ Modelo cinético do metabolismo ósseo do fluoreto (Brenner, 2004).

PLASMA		TECIDO ÓSSEO	
		não ligado ("pool")	Ligado ("pool")
	K_1	K_3	
$[F^-]$	⇄	$[F^-]$	⇄ $[F^-]$-apatita
	K_2	K_4	

com imagem dinâmica de PET. Hawkins postulou três compartimentos, um modelo de quatro parâmetros para o comportamento do ^{18}F no espaço plasma; um compartimento não ligado ao osso e outro ligado ao osso. O processo fisiológico reflete a cinética do $^{18}F^-$ no plasma, como ilustra a Figura 8.6, do compartimento não ligado no osso, seguido do intercâmbio iônico com o grupo hidroxil da hidroxiapatita, para formar a fluorapatita (fração ligada), sendo captado no osso na proporção ao fluxo sanguíneo e à atividade metabólica[26, 27].

Imagens do esqueleto com alta qualidade podem ser obtidas uma hora após a administração do Na-^{18}F. O modelo cinético PET em humanos foi iniciado em 1992, por Hawkins e colaboradores, e o primeiro relato de imagens com PET de corpo inteiro foi publicado por Hoch, em 1993.

CONTROLE DE QUALIDADE

O controle de qualidade é a parte das Boas Práticas de Fabricação que se refere à amostragem, especificações, ensaios, procedimentos de organização, documentação e autorização que asseguram qualidade satisfatória na utilização de um produto[32]. Todo produto a ser administrado em humanos deve reunir requisitos de qualidade que garantam sua pureza, integridade e eficácia[32, 33].

Para o caso particular do uso de radiofármacos, devem ser considerados aspectos farmacêuticos e radiológicos. Assim, os ensaios efetuados são os mesmos exigidos para os produtos farmacêuticos convencionais, bem como são realizados ensaios específicos por se tratarem de substâncias radioativas[32, 33]. A maioria dos radiofármacos utilizados são administrados aos pacientes por via parenteral e, portanto, devem ser estéreis e livres de pirogênio[34].

Os radiofármacos são submetidos a ensaios de controle de qualidade, divididos em três categorias: controles químicos, controles físicos e físico-químicos e controles biológicos[32].

Controle de qualidade de FDG-^{18}F

A fluordeoxiglicose-^{18}F (FDG-^{18}F) é submetida a diversos ensaios para garantir a sua qualidade: características organolépticas, pH, pureza radionuclídica, pureza química e radioquímica, esterilidade e apirogenicidade.

Características organolépticas

Toda solução injetável, com exceção das suspensões coloidais, deve apresentar aspecto límpido e sua coloração corresponder à especificação do material. Para uma preparação radiofarmacêutica, uma alteração na aparência física pode refletir em seu comportamento biológico. A ausência de partículas visíveis se determina mediante iluminação pontual com lâmpada de tungstênio, sobre fundo branco e negro[32, 33, 35].

A solução de FDG-^{18}F tem de ser límpida, incolor e livre de material particulado. Se possível, a solução deve ser observada através de um vidro plumbífero não colorido sob luz adequada (Figura 8.6).

pH

O pH é uma forma de expressar a concentração de íons de hidrogênio de um meio e é definido como o logaritmo inverso da concentração de íons H^+. Todos os radiofármacos devem apresentar pH apropriado para garantir sua estabilidade e integridade. O valor ideal é de 7,4 (pH do sangue), podendo este variar entre 2 e 9, uma vez que o sangue possui alta capacidade tamponante. O valor do pH de um radiofármaco pode ser verificado em um pHmetro ou por colorimetria com papel de pH[32, 33].

O pH da solução injetável de FDG-^{18}F deve estar entre 4,50 e 8,54.

Pureza radionuclídica

A pureza radionuclídica é a fração da radioatividade total na forma do radionuclídeo desejado presente no radiofármaco. A pureza radionuclídica pode ser determinada pela

Figura 8.6 ▶ Inspeção visual através de vidro plumbífero.

medida das meias-vidas e características da radiação emitida pelos radionuclídeos. Emissores de raios-γ se distinguem uns dos outros pela identificação de suas energias γ em um espectro obtido por um detector com cristal de germânio-lítio [Ge(Li)] acoplado a um analisador multicanal[33].

O tempo de meia-vida física do F^{-18} deve estar entre 105 e 115 minutos, medido com um detector apropriado para determinar o decaimento radioativo durante certo período, por exemplo, 10min4s. Não menos do que 99,5% das emissões γ observadas devem corresponder a 0,511 MeV, 1,022 MeV ou picos de espalhamento *Compton* de F^{-18}.

Pureza radioquímica

É a fração da radioatividade total do radiofármaco que está na forma química determinada. Cada radiofármaco tem uma pureza radioquímica específica, segundo os requisitos da USP – Universidade de São Paulo (Farmacopeia Americana) ou da FDA (*Food and Drug Administration*), normalmente de no mínimo 90%.

As causas da presença de impurezas radioquímicas são: marcação inicial insuficiente, radiólise, decomposição, mudança de temperatura ou pH, exposição à luz e presença de agentes oxidantes ou redutores[32, 33, 36]. Impurezas radioquímicas ocasionam imagens de má qualidade devido à alta radiação de fundo dos tecidos adjacentes e do sangue e expõem o paciente a uma dose de radiação desnecessária[33].

Vários métodos analíticos são utilizados para determinação da pureza radioquímica de um radiofármaco. Dentre eles, podemos destacar a cromatografia em papel, camada delgada, gel e líquida de alta eficiência, extração por solvente, eletroforese em papel e gel, troca iônica[33].

O ensaio básico mais utilizado é a cromatografia em camada delgada. A radiocromatografia é realizada da mesma forma que a cromatografia convencional, colocando uma pequena amostra do material a ser analisado numa extremidade da fita cromatográfica (fase estacionária). O solvente (fase móvel) é selecionado de acordo com o produto e seu contaminante potencial e os padrões de migração de cada um no sistema cromatográfico devem ser conhecidos. A presença do radiomarcador permite a medida quantitativa da migração[36].

Existem no mercado sistemas elaborados para ler as tiras de cromatografia, que são os *scanners* que fornecem dados da distribuição radioativa. Na prática, sem utilização de *scanner*, o modo mais simples de se avaliar é cortar a tira em vários segmentos e contá-los separadamente em um contador de poço (Contador Gama)[36].

O valor de R_f para a injeção de FDG-^{18}F deve corresponder, dentro de uma faixa aceitável, ao da solução padrão de referência de FDG-^{18}F quando ambos são analisados lado a lado na mesma fita cromatográfica de TLC-SG (alumínio), desenvolvida em acetonitrila: água (95:5, v/v) e então escaneada num radiocromatógrafo[35]. A impureza radioquímica é calculada como a razão (em porcentagem) da radioatividade do componente indesejável com a radioatividade total aplicada na origem[33].

O radiofármaco FDG-^{18}F tem um R_f de cerca de 0,4–0,5 nesse sistema, enquanto que o Fluoreto-^{18}F permanece na origem ($R_f = 0$). A pureza radioquímica do ra-

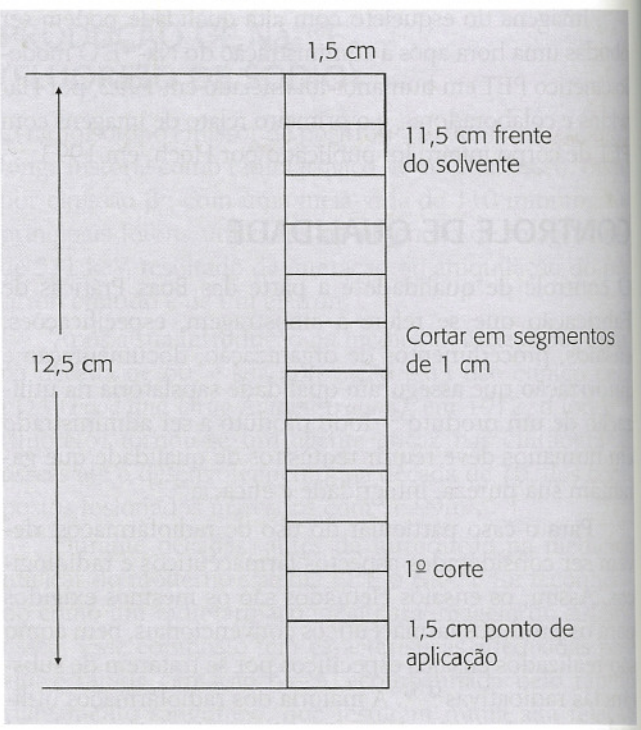


Figura 8.7 ▶ Fita cromatográfica TLC-SG para controle radioquímico.

Figura 8.8 ▶ Contador gama.

diofármaco FDG-^{18}F deve ser maior que 90%1 (Figuras 8.7, 8.8 e 8.9).

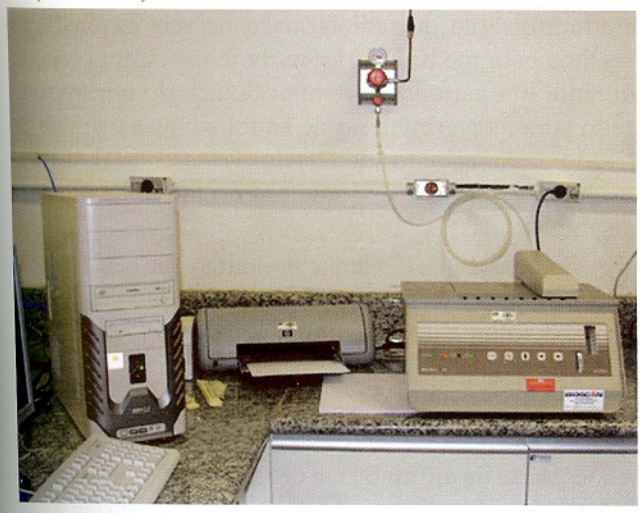


Figura 8.9 ▶ Radiocromatógrafo.

Pureza química

A pureza química de um radiofármaco é a fração do material na forma química desejada, independentemente se está radiomarcado ou não[33].

FDG-^{18}F pode ser sintetizado por rota nucleofílica ou eletrofílica e, portanto, pode conter diferentes impurezas. É necessário demonstrar a ausência ou presença de quaisquer ingredientes iniciais não marcados ou reagentes químicos empregados no processo de síntese que possam estar presentes no produto final[35].

Deve-se determinar qualitativa e quantitativamente a presença de contaminantes químicos não radioativos, principalmente se forem metais pesados, substâncias tóxicas ou que alteram o comportamento físico-químico e biológico do radiofármaco. A determinação de impurezas químicas pode ser realizada pelos seguintes métodos analíticos: ensaios de gota (*spot test*), espectrofotometria de UV-visível, espectroscopia de absorção atômica, cromatografia em camada delgada e extração por solvente[32, 33].

No processo de produção de FDG-^{18}F, utiliza-se o Kryptofix 2.2.2 (K-222), que é um aminopoliéter, como um reagente de transferência de fase para facilitar a reação nucleofílica do fluoreto-^{18}F nas preparações rotineiras de FDG-^{18}F. Por causa da sua toxicidade (DL50 35 mg/kg em ratos), é muito importante o desenvolvimento de um método para análise do K-222[37].

Várias técnicas analíticas são aplicadas para determinar o nível de Kryptofix nas amostras: cromatografia em camada delgada, a gás e líquida de alta eficiência. A cromatografia em camada delgada (TLC-Alumínio) é o método mais prático por causa da sua simplicidade, utilizando solvente hidróxido de amônio e metanol (1:9), vapor de iodo como revelador e comparação das manchas do padrão e da amostra. Uma mancha amarela a aproximadamente 3 cm do ponto de aplicação evidencia a presença de Kryptofix[32, 37] (Figura 8.10).

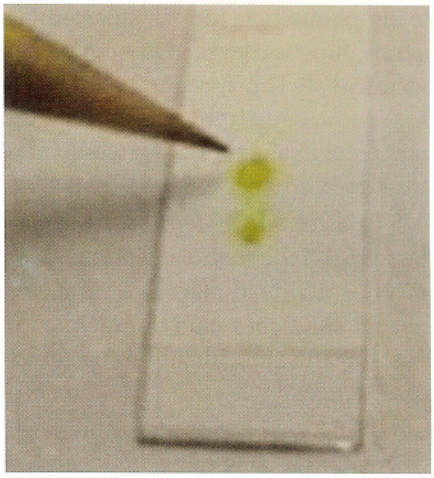


Figura 8.10 ▶ Fita cromatográfica TLC-Alumínio para determinação de Kryptofix.

Resíduos de solventes

Quando solventes residuais estão presentes na preparação final de FDG-^{18}F, os seus efeitos farmacológicos, fisiológicos ou tóxicos potenciais devem ser considerados.

Qualquer solvente residual com potencial de toxicidade deve estar dentro de limites adequados e a conformidade com estes limites deve ser demonstrada por intermédio de métodos validados. O método de cromatografia a gás com detecção por ionização de chama é utilizado e os limites da USP para acetonitrila, etanol e éter etílico são 0,04%, 0,5% e 0,5% respectivamente[35] (Figura 8.11).

Esterilidade

Figura 8.11 ▶ Cromatógrafo a gás.

Esterilidade indica ausência total de micro-organismos viáveis – bactérias, fungos e leveduras – em uma preparação radiofarmacêutica[32, 33]. Para assegurar a esterilidade de um radiofármaco é necessário aplicar as Boas Práticas de Fabricação, que incluem técnicas assépticas para produção e fracionamento do produto[32].

O ensaio de esterilidade deve ser realizado sob fluxo laminar, Classe ISO 5, de modo asséptico, incubando por 14 dias uma amostra do radiofármaco em meios de cultura, que oferecem condições para o crescimento dos mais diversos micro-organismos, incluindo bactérias aeróbicas e anaeróbicas e fungos[33, 36].

A injeção de FDG-^{18}F pode ser distribuída ou dispensada antes de se completar o teste de esterilidade, que deve ser realizado em até 24 horas após a fabricação[35] (Figura 8.12).

Apirogenicidade

Assim como estéril, todo radiofármaco de administração intravenosa deve ser livre de pirogênio[35, 36]. Pirogênios são diversas substâncias que produzem elevação de temperatura corporal. Os pirogênios exógenos são aqueles originários fora do corpo e induzem elevações térmicas quando injetados em humanos e animais. O lipopolissacarídeo (endotoxina) é o mais presente e importante pirogênio exógeno[38, 39].

Endotoxinas são complexos de alto peso molecular associados à membrana externa de bactérias gram-negativas, sejam elas patogênicas ou não, e se constituem na mais importante fonte de pirogênio para a indústria farmacêutica[39, 40].

As endotoxinas apresentam tamanhos entre 0,05–1 µm, são solúveis e termoestáveis. Sua presença em uma preparação radiofarmacêutica pode causar sintomas como febre, calafrios, dores de cabeça, dilatação das pupilas e transpiração. Essas reações podem se manifestar num paciente no intervalo de 30 minutos a 2 horas após sua administração[33].

A USP estabelece critérios para o ensaio de pirogênio. O método histórico *in vivo* (em desuso) envolve a administração do radiofármaco na veia da orelha de coelhos para medir a variação da temperatura corpórea durante um período de tempo. O método *in vitro* utilizado para a determinação de endotoxinas é o ensaio do Lisado de Amebócitos de *Limulus Polyphemus* (LAL), baseado na gelificação de proteínas do lisado na presença de endotoxinas[36].

Conforme a USP, o limite de endotoxina para FDG-^{18}F é 175 Unidades de Endotoxina por dose (UE/dose), onde dose é o volume máximo administrado no prazo de validade[33, 35] (Figura 8.13).

Monitoração microbiológica ambiental

A adequação de um ambiente de trabalho deve ser avaliada pelo atendimento à classe planejada, de acordo com o número de partículas por volume de ar. Contadores de partículas não viáveis são utilizados para essa finalidade[41].

Em se tratando de área limpa farmacêutica, deve ser realizada, além da contagem de partículas não viáveis, a monitoração das partículas viáveis, através da exposição por 60 minutos de placas de meios de cultura ou por amostradores de ar, para verificar a presença de micro-organismos no ambiente[41].

Os ambientes de produção (celas de produção e fracionamento) e de controle microbiológico de FDG-^{18}F, bem como os procedimentos assépticos dos operadores devem ser avaliados com uma periodicidade definida para assegurar a qualidade do produto em todas as etapas do processo.

Estabilidade

A estabilidade de um radiofármaco é verificada para se atestar por quanto tempo este permanece em condições apropriadas de uso com a finalidade para qual é destinado, considerando as suas características físicas (propriedades

Figura 8.12 ▸ Ensaio de esterilidade sob fluxo laminar.

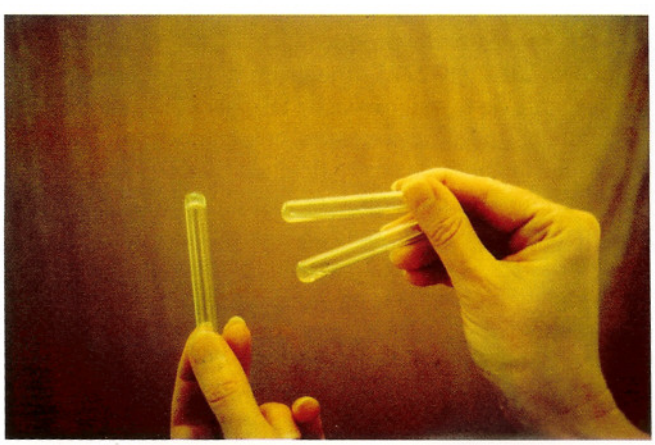


Figura 8.13 ▸ Ensaio LAL por formação de gel.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

organolépticas e decaimento radioativo), físico-químicas, químicas e biológicas.

A substância FDG-^{18}F apresenta-se estável por 4 horas, a partir de sua calibração, armazenada à temperatura ambiente, salvo indicação contrária do fabricante[32].

1. Blau M, Nagler W, Bender MA. F-18. A new isotope for bone scanning. J Nucl Med. 1962;3:332-4.
2. Ido T, Wan CN, Fowler JS, Wolf AP. Fluorination with F_2. A conventionent synthesis of 2-deoxy-2-fluor-D-glucose. J Org Chem. 1977;42:2341-2.
3. Ido T, Wan CN, Casella V, Fowler JS, Wolf AP, Reivich M, et al. Labeled 2-deoxy-D-glucose analogs. ^{18}F-labeled 2-deoxy-fluoro-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose, and ^{14}C-2-deoxy-2-fluor-D-glucose. J Label Comp Radiopharm. 1978;14:171-83.
4. Phelps ME, Mazziotta JC, Huanc SC. Study of cerebral function with positron computed tomography. Cereb Blood Flow Metab. 1982;2:113-62.
5. Kilbourn MR, Hood JT, Welch MJ. A simple ^{18}O water target for ^{18}F production. Int J Appl Radiat Isot. 1985;2:111-5.
6. Wieland BW, Hendry GO, Schidt DG, Bida G, Ruth TJ. Efficient small-volume O-18 water targets for producing ^{18}F fluorine with low energy protons. J Label Compd Radiopharm. 1986;23:1338-40.
7. Hamacher K, Coenen HH, Stöclin G. Efficient stereo specific synthesis of no-carrier-added 2-[^{18}F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using amino polyether supported nucleophilic substitution. J Nucl Med. 1986;27:235-8.
8. Barrio JR, MacDonald MS, Robinson GD Jr, Najafi A, Cook JS, Kuhl DE. Remote, semi automated production of F-18-labelled 2-deoxy-2-fluoro-glucose. J Nucl Med. 1981;22:372-5.
9. Ma Y, Huang BX, Channing MA, Eckelman WC. Quantification of Kriptofix 2.2.2 in 2-[18F]-FDG and other radiopharmaceuticals by LC/MS/MS. Nucl Med and Biol. 2002;29:125-9.
10. Adam MJ. A rapid, stereoselective, highyielding synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-hexopyranoses: Reaction of glycols with acetyl hypofluorite. J Chem Soc Chem Commun. 1982:730-2.
11. Adamson J, Foster AB, Hall LD, Johnson RN, Hesse RH. Fluorinates carbohydrates. Part II. 2-Deoxy-2-fluoro-D-glucose and 2-Deoxy-2-fluoro-D-mannose. Carbohydrate Res. 1970;15:351-9.
12. Beeley PA, Szarek WA, Hay GW, Perlmutter MM. A synthesis of 2-deoxy-2-[18F]fluoro-D-glucose using accelerator-produced 18F ion generated in a water target. Can J Chem. 1984;62:2709-11.
13. Diksic M, Jolly D. New high-yield synthesis of ^{18}F-labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. Int J Appl Radiat. 1983;34:893-6.
14. Ehrenkaufer RE, Potocki JF, Jewett DM. Simple synthesis of F-18-labeled 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose: concise communication. J Nucl Med. 1984;25:333-7.
15. Jewett DM, Potocki JF, Ehrenkaufer RE. A gas-solid phase microchemical method for the synthesis of acetyl hypofluorite. J Fluorine Chem. 1984;24:477-84.
16. Levy S, Elmaleh D, Livini E. A new method using anhydrous [18F]-fluoride to radiolabel 2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose. J Nucl Med. 1982a;23:918-22.
17. Levy S, Livini E, Elmalech D, Curatolo WJ. Direct displacement with anhydrous fluoride of the C-2 trifluoro-methanesulfonate of methyl 4,6-O-benzylidene-3-O-methyl-2-O-trifluoromethylsulphonyl-β-D-mannoside. J Chem Soc Chem Comm. 1982a:972-3.
18. Pacak J, Tocik Z, Cerny M. Synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. J Chem Soc Chem Comm. 1969:77.
19. Shiue C-Y, Salvadori PA, Wolf AP, Fowler JS, Mac-Gregor RR. A new improved synthesis of 2-deoxy-2-[^{18}F]fluoro-D-glucose from ^{18}F-labeled acetyl hypofluorite. J Nucl Med. 1982;23:899-903.
20. Shiue CY, To KC, Wolf AP. A rapid synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose from xenon difluoride suitable for labeling with ^{18}F. J Labelled Cpd Radiopharm. 1983;20:157-62.
21. Sood S, Firnau G, Garnett ES. Radiofluorination with xenon difluoride. Int J Appl Radiat Isot. 1983;34:743-5.
22. Szarek W, Hay GW, Perlmutter MM. A rapid stereospecific synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose using fluoride ion. J Chem Soc Chem Comm. 1982:1253-4.
23. Tewson TJ. Cyclic sulfur esters as substrates for nucleophilic substitution. A new synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. J Org Chem. 1983a;48:3507-10.
24. Tewson TJ. Synthesis of no-carrier-added fluorine-18 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose. J Nucl Med. 1983b;24:718-21.
25. Tewson TJ, Soderlind M. 1-Propenyl-4,6-O-benzylidene-β-mannopyranoside-2,3-cyclic sulfate: a new substrate for the synthesis of [F-18]-2-deoxy-2-fluoroglucose. J Nucl Med. 1985;26:129.
26. Brenner W, Vernon C, Muzi M, Mankoff D, Link J, Conrad E, et al. Comparison of different quantitative approaches to 18F-fluoride. J Nucl Med. 2004;45:1493-500.
27. Hawkins RA, Choi Y, Huang SC, Hoh C, Dahlbom M, Schieper N, et al. Evaluation of the skeletal kinetics of fluorine-18-fluride ion with PET. J Nucl Med 1992;33:633-42.
28. Hoh CK, Hawkins RA, Dahlbom M, et al. Whole body skeletal imaging with [^{18}F]-fluoride ion and PET. J Comp Assist Tomogr. 1993;17:34-41.
29. Blau M, Ganatra R, Bender MA. ^{18}F-fluoride for bone imaging. Semin Nucl Med. 1972;2:31-7.
30. Barboza MF, Fukumori NTO, Herrerias R, Sumiya LC, Bruzinga W, Bambalas E, et al. Brazilian experience in the production of ^{18}F-FDG". International Conference on Clinical PET and Molecular Nuclear Medicine. IPET2007. Bangkok, Tailândia; 2007.
31. Barboza MF, Sciani V, Herrerias R, Matsuda MMN, Sumiya LC, Bruzinga W, et al. Synthesis and quality control of ^{18}F-FDG at IPEN-CNEN/SP". XX Congresso de Alasbimn – Primeiro Congresso Uruguaio de Medicina Nuclear. Uruguay; 2005. p. 164.
32. Manual de Protocolos de Calidad de Radiofármacos. São Paulo: ARCAL. 1999. p. 10.
33. Saha GB. Fundamentals of nuclear pharmacy. 5th ed. New York: Springer; 2004. p. 151-73.
34. Manual de Buenas Practicas Radiofarmaceuticas. Montevideo: ARCAL; 1998. p. 12.
35. Hung JC. Comparison of various requirements of the quality assurance procedures for ^{18}F-FDG injection. J Nucl Med. 2002;43(11):1495-506.
36. Thrall JH, Ziessman HA. Medicina Nuclear. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. p. 57-9.
37. Ma Y, Huang BX, Channing MA, Eckelman WC. Quantification of Kryptofix 2.2.2 in 2-[^{18}F]FDG and other radiopharmaceuticals by LC/MS/MS. Nucl Med Biol. 2002;29:125-9.
38. Pearson FC. Pyrogens endotoxins, LAL testing and depyrogenation. New York: Marcel Dekker; 1985. p. 11-23.
39. Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 2ª ed. São Paulo: Atheneu; 2003. p. 182.