

# VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE PARA DETERMINAÇÃO DE ECD EM RADIOFÁRMACO DE <sup>99m</sup>Tc

\*Érika V. Almeida (PG), Neuza T. O. Fukumori (PQ), Dulcila M. L. Bernades (PQ),  
P. G. da Silva (PQ), Margareth M. N. Matsuda (PQ)

Constancia

\*erikavieira@usp.br

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares-IPEN, Diretoria de Radiofarmácia-DIRF  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242- São Paulo/Brasil.

Palavras Chave: validação, CLAE, ECD-<sup>99m</sup>Tc.

## Introdução

Etilenodocisteinato de dietila (ECD) é sintetizado pela reação de esterificação de etilenodocisteína (EC) com etanol em meio de ácido clorídrico. O ECD-<sup>99m</sup>Tc (Fig. 1) é formado por um complexo mono-oxo Tc(V) e uma molécula de ECD apresentando dois nitrogênios e dois tióis como grupos doadores (N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>). É indicado para obtenção de imagens de fluxo sanguíneo da região cerebral em pacientes com anomalias do sistema nervoso central<sup>1,2</sup>.

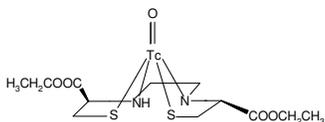


Figura 1. Estrutura molecular de ECD-<sup>99m</sup>Tc<sup>2-</sup>.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar método para quantificar ECD em reagentes liofilizados (RL) e ECD-<sup>99m</sup>Tc por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os parâmetros: robustez, especificidade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram avaliados conforme a resolução RE n<sup>o</sup> 899/2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)<sup>3</sup>.

## Resultados e Discussão

Utilizando-se solução de referência ECD alguns parâmetros de robustez do método analítico foram analisados. Os parâmetros e as condições escolhidas estão apresentados na Tab. 1.

Tabela 1. Condições de análise para ECD-<sup>99m</sup>Tc.

Parâmetro	Valor
Coluna	Shim-pack (250 x 4,6 mm; 5 µm)
Fase móvel	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (12,5 mmol L <sup>-1</sup> ); C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O
Gradiente	100% fase aquosa a 100% fase orgânica
Fluxo da fase móvel	1,0 mL min <sup>-1</sup>
Volume de amostra	20 µL

As análises para validação do método foram desenvolvidas utilizando as condições da Tab.1. A Fig. 2 apresenta o cromatograma de ECD-<sup>99m</sup>Tc e das impurezas EC-<sup>99m</sup>Tc e <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>.

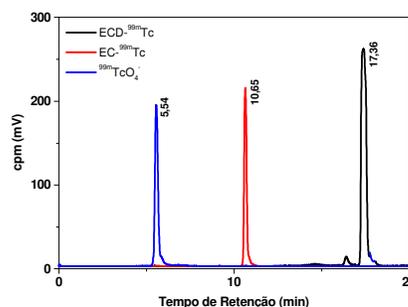


Figura 2. Cromatogramas de ECD-<sup>99m</sup>Tc, EC-<sup>99m</sup>Tc e <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>. Concentração radioativa: 55 MBq mL<sup>-1</sup>.

O método desenvolvido demonstrou-se específico para ECD-<sup>99m</sup>Tc (17,36 min) com separação das impurezas EC-<sup>99m</sup>Tc (10,65 min) e <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> (5,54 min). O método mostrou-se linear no intervalo de concentração de 0–500 µg mL<sup>-1</sup>. A curva analítica pode ser representada pela equação: Absorbância = 0,229 [ECD] + 0,240 (n=6), coeficiente de correlação (r<sup>2</sup>) igual a 0,9995, maior que o valor mínimo estabelecido pela ANVISA<sup>3</sup> (r<sup>2</sup> = 0,99). A repetibilidade variou entre 0,07 e 2,11% e a precisão intermediária variou entre 0,41 e 4,11%. Os valores de precisão estão abaixo dos critérios aceitáveis (≤ 5%) segundo a ANVISA<sup>3</sup>. Os valores de exatidão obtidos estão no intervalo 95,38-100,71%. LD e LQ foram 0,281 µg mL<sup>-1</sup> e 0,936 µg mL<sup>-1</sup>, respectivamente. O valor encontrado para ECD no RL foi de 0,99 mg. O valor de bula é 1,00 mg.

## Conclusões

O método para a quantificação de ECD e ECD-<sup>99m</sup>Tc, mostrou-se seletivo, linear na faixa de concentração de 0 a 500 µg mL<sup>-1</sup>, preciso e exato.

## Agradecimentos

Ao CNPq pelo suporte financeiro e à DIRF pela infra-estrutura.

<sup>1</sup> Verduyck, T., Kieffer, D., Huyghe, D., Cleynhens, B., Verbeke, K., Verbruggen, A. e Bormans, G. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2003**, 32, 669.

<sup>2</sup> Vanbilloen, H.P. e Verbruggen, A.M. *Nucl. Med. Biol.* **1998**, 25, 569.

<sup>3</sup> Agência Nacional de Vigilância Sanitária[ANVISA]; RE n<sup>o</sup> 899/2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Disponível na internet < <http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso: em 10 mar. **2008**.