

Autor correspondente:

Érika Vieira de Almeida
Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares - IPEN -
Centro de Radiofarmácia
São Paulo (SP), Brasil

Determinação de SAH em Radiofármaco de ^{99m}Tc por Cromatografia por Exclusão De Tamanho. Validação.

Almeida, Érika Vieira de*

Email:

eriquimika@yahoo.com.br

Soro albumina humano (SAH) é a proteína de maior abundância no plasma humano. A concentração no sangue varia de 35-45 g L⁻¹. É uma proteína sintetizada e secretada pelo fígado, com peso molecular entre 66 kDa e 69 kDa. SAH exerce duas funções importantes: uma de manutenção da pressão oncótica e a outra, na capacidade de fixar e transportar ligantes livrando assim o organismo de produtos tóxicos. SAH marcada com tecnécio- ^{99m}Tc (SAH- ^{99m}Tc) é um radiofármaco utilizado como agente para determinação de alterações na circulação linfática, diagnóstico de linfedemas primários e secundários, além de aplicação clínica para testes das funções cardíacas. SAH é comercialmente disponível na forma de reagente liofilizado e sua preparação é feita pela adição de pertecnetato ($^{99m}\text{TcO}^-_4$). ^{99m}Tc é reduzido e posteriormente ligado à proteína. Cromatografia por Exclusão de Tamanho (CET) é uma técnica analítica utilizada para verificar o peso molecular e permite identificar monômero, dímero e oligômeros. Este trabalho desenvolveu e validou um método cromatográfico para quantificar SAH em Reagentes Liofilizados (RL) e SAH- ^{99m}Tc . Foram determinados os principais parâmetros de validação do método de análise de SAH- ^{99m}Tc e SAH por CET. Foi utilizado sistema LC 20AT Prominence (Shimadzu) composto por duas bombas, auto injetor (SIL 20A), forno de coluna (CTO 20A), sistema de controle (CBM 20A), coluna Protein-Pack 300SW (300 mm x 7,5 mm d.i., 10 μm), detector de PDA (SPD M20A) e detector de radioatividade (Bioscan). RL de SAH e eluído do gerador foram obtidos do IPEN-CNEN/SP (Brasil) e o padrão de SAH 20% obtido da Baxter. Todos os reagentes foram adquiridos da Merck (Alemanha). A água foi purificada em sistema Milli-RX Millipore (França). O RL foi reconstituído pela adição de 2 mL de eluído contendo 3,0 mCi de $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ e o tempo de reação foi de 30 minutos. 200 μL da amostra foram injetados e a fase móvel utilizada foi constituída de Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NaCl e NaN_3 nas proporções de 4:1:1:0,1, (m/m). As amostras foram eluídas isocriticamente em fluxo de 1,0 mL min⁻¹ e o tempo de cada corrida foi de 20 minutos. Para análise da concentração de SAH no RL, foram preparadas soluções padrões de SAH zero, 2, 5, 10, 15 e 20 mg mL⁻¹. Todas as soluções foram analisadas em triplicata e as curvas de calibração foram obtidas. A robustez foi avaliada pela alteração dos parâmetros: vazão e pH da fase móvel e temperatura do forno. O cromatograma apresentou picos em 4,7 min, 7,0 min, 8,1 min e 13,3 min atribuídos ao dímero de SAH, SAH de peso molecular intermediário, monômero de SAH e agentes estabilizantes, respectivamente. A curva de calibração pode ser representada pela equação $\text{Área} = 2,931 [\text{SAH}] + 0,128$ (n = 6), coeficiente de correlação R = 0,9997, com desvio-padrão relativo inferior a 1,0 %. A sensibilidade do método foi expressa em limite de detecção (LD) de 65 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e limite de quantificação (LQ) de 216 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O valor encontrado para SAH nos kits foi de 6,20 mg L⁻¹. O método mostrou-se robusto, pois variações nos parâmetros de análise não resultaram em modificações dos cromatogramas. Concluiu-se que o método é indicado para a quantificação de SAH em reagentes liofilizados usados em medicina nuclear.