

## Factores que influenciam a estabilidade da $^{18}\text{F}$ -FDG

Ana Graça<sup>1</sup>, Román Sánchez Sánchez<sup>2</sup>, Lucía Garcia Bernardo<sup>2</sup>, Juan Rayo Madrid<sup>2</sup>, Filipa Lucena<sup>3</sup>

1. Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa, anagraca\_4@netcabo.pt

2. Serviço de Medicina Nuclear, Hospital Infanta Cristina, Badajoz.

3. Área Científica de Medicina Nuclear, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa.

**RESUMO: Introdução** – A ausência de um ciclotrão para produção da 2- $^{18}\text{F}$ Flúor-2-deoxi-D-glucose ( $^{18}\text{F}$ -FDG) é, actualmente, uma realidade para a maior parte dos centros onde se realizam exames de Tomografia por Emissão de Positrões (TEP), sendo importante garantir a qualidade deste radiofármaco desde o momento da sua síntese até à administração ao doente. O objectivo do estudo é demonstrar a influência dos parâmetros temperatura, pH, concentração radioactiva (CR) e tempo na pureza radioquímica da  $^{18}\text{F}$ -FDG. **Metodologia** – Analisou-se o pH e a pureza radioquímica [por cromatografia em camada fina (CCF)] de seis amostras de  $^{18}\text{F}$ -FDG com diferentes CR e em diferentes tempos e temperaturas. **Resultados** – Registou-se um aumento da percentagem de  $^{18}\text{F}$  aquando do aumento do tempo. Contudo, os resultados não comprovam que a diluição das amostras diminui a degradação do  $^{18}\text{F}$ -FDG. No entanto, comparando apenas as amostras diluídas (185 e 740 MBq/ml), observa-se uma relação positiva entre a CR e a percentagem de  $^{18}\text{F}$ . Verificou-se ainda um aumento da percentagem de  $^{18}\text{F}$  nas temperaturas mais elevadas. **Conclusão** – Sugere-se a diluição das amostras de  $^{18}\text{F}$ -FDG e que o tempo de armazenamento não seja muito longo. As amostras devem ainda encontrar-se a temperatura e pH estáveis.

*Palavras-chave:*  $^{18}\text{F}$ -FDG, pureza radioquímica, autoradiólise, percentagem de  $^{18}\text{F}$

## Factors that influence the stability of the FDG

**ABSTRACT: Introduction** – The absence of a cyclotron for production of 2- $^{18}\text{F}$ Fluor-2-deoxy-D-glucose ( $^{18}\text{F}$ -FDG) is now a reality for most of the centers where Positron Emission Tomography (TEP) exams are held in. It is therefore important to ensure the quality of this radiopharmaceutical from the moment of its synthesis till the administration to the patient. The purpose of this study is to show the influence of the parameters temperature, pH, radioactive concentration (CR) and time in radiochemical purity. **Methodology** – We analyzed the pH and the radiochemical purity [by thin layer chromatography (TLC)] of six samples of  $^{18}\text{F}$ -FDG with different CR and at different times and temperatures. **Results** – There was an increase in the percentage of  $^{18}\text{F}$  with time. Nevertheless, results show that samples' dilution decreases the degradation of  $^{18}\text{F}$ -FDG. However, comparing only the diluted samples (185 and 740 MBq / ml), there is a positive relationship between CR and the percentage of  $^{18}\text{F}$ . There was also an increase in percentage of  $^{18}\text{F}$  at higher temperatures. **Conclusion** – We advise to dilute the solution and the period of time for storage the  $^{18}\text{F}$ -FDG should not be so long. The samples must have a stable temperature and pH.

*Keywords:*  $^{18}\text{F}$ -FDG, radiochemical purity, autoradiolysis, percentage of  $^{18}\text{F}$

### Introdução

A 2- $^{18}\text{F}$ Flúor-2-deoxi-D-glucose ( $^{18}\text{F}$ -FDG) é o radiofármaco mais utilizado actualmente em Tomografia por Emissão de Positrões (TEP). Esta, na maioria dos casos, não é produzida perto de centros onde se realizam exames TEP, sendo disponibilizada em frascos multidoso. Este facto aumenta o tempo

desde a síntese até à administração do radiofármaco, o que faz com que sejam necessárias concentrações radioactivas (CR) mais elevadas<sup>1</sup> e condiciona as condições de armazenamento e transporte da  $^{18}\text{F}$ -FDG. Em Portugal, devido à inexistência de um ciclotrão comercial em funcionamento no país, este tema torna-se pertinente, podendo alertar

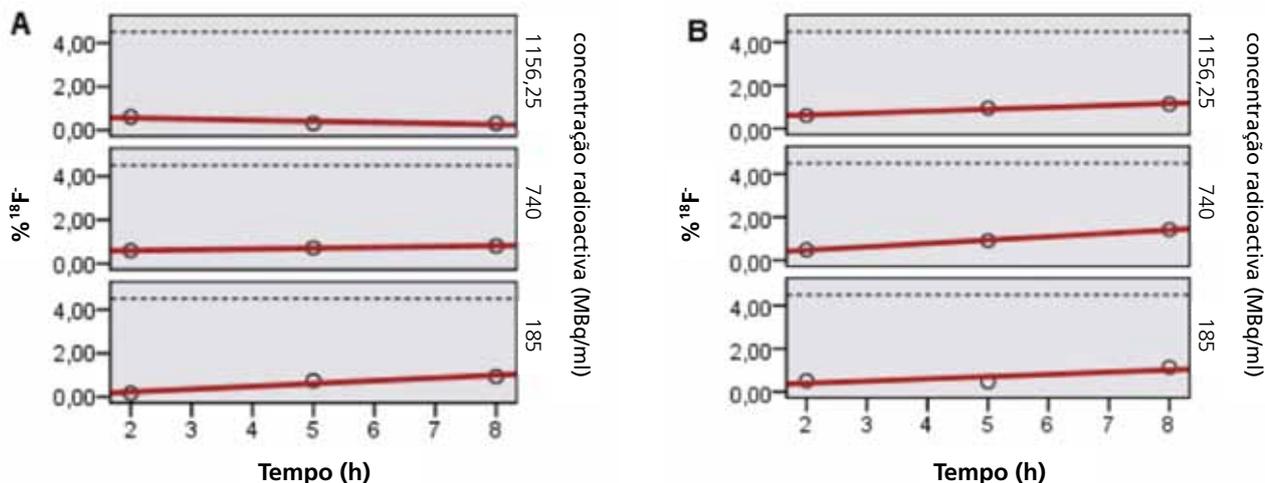


Gráfico 1: Relação entre o tempo e %<sup>18</sup>F, tendo em conta as CR e a temperatura: A) 21° C e B) 40° C.

sobre os cuidados necessários para manter a elevada qualidade da <sup>18</sup>F-FDG requerida pela Farmacopeia Europeia (pureza radioquímica >95%)<sup>2</sup>.

O controlo da qualidade (CQ) é importante em qualquer radiofármaco. Este controlo permite analisar vários parâmetros como a pureza radioquímica. Nos radiofármacos TEP, a pureza radioquímica pode variar com o tempo, visto possuírem altas actividades específicas, o que os torna mais susceptíveis de sofrerem autoradiólise<sup>3</sup>. Este processo conduz à decomposição do radiofármaco por acção de radicais livres formados durante a oxidação. Esta última resulta da interacção da radiação ionizante com a água e, possivelmente, com o ar<sup>3-4</sup>.

Vários autores<sup>1,5</sup> demonstraram como a temperatura, o pH, a CR e o tempo de armazenamento podem influenciar a pureza radioquímica da <sup>18</sup>F-FDG. Outros estudos<sup>2,6</sup> indicaram a tendência da <sup>18</sup>F-FDG para se decompor mais rapidamente a elevadas temperaturas e a elevadas CR. Um estudo de Jacobson<sup>3</sup> revelou como a <sup>18</sup>F-FDG, cujo pH deverá estar entre 4,5 a 8,5, epimeriza a pH alcalinos formando o 2-[<sup>18</sup>F] Flúor-2-deoxi-D-manose (<sup>18</sup>F-FDM) e <sup>18</sup>F-flúor livre (<sup>18</sup>F)<sup>3</sup>.

O objectivo deste estudo é demonstrar a influência da temperatura, pH, CR e tempo de armazenamento na pureza radioquímica da <sup>18</sup>F-FDG.

## Metodologia

No presente estudo experimental foram analisadas seis amostras de <sup>18</sup>F-FDG com diferentes concentrações radioactivas. Todas elas foram submetidas a testes de controlo da qualidade [medição do valor de pH e determinação da percentagem da impureza radioquímica <sup>18</sup>F através de cromatografia em camada fina (CCF)] às 2, 5 e 8 horas após síntese da <sup>18</sup>F-FDG.

### Produção da <sup>18</sup>F-FDG

Para produção da <sup>18</sup>F-FDG obteve-se <sup>18</sup>F através da reacção <sup>18</sup>O(p,n)<sup>18</sup>F num ciclotrão da General Electric (GE) PETracer. A síntese foi realizada no módulo automático TraceLab MX FDG da GE, segundo substituição nucleofílica do <sup>18</sup>F com

triflato de manosa após a hidrólise dos grupos ácidos<sup>2</sup>.

### Preparação das amostras

Realizaram-se duas diluições da solução de <sup>18</sup>F-FDG inicial (CR=1156,25 MBq/ml) com água ultra pura (H<sub>2</sub><sup>18</sup>O) de forma a obter duas soluções com CR de 740 MBq/ml e 185 MBq/ml. De cada solução obtida (1156,25 MBq/ml; 740 MBq/ml; 185 MBq/ml) foram retiradas duas amostras, tendo uma delas sido colocada à temperatura de 21° C e a outra à temperatura de 40° C.

### Determinação do pH e da pureza radioquímica

Para determinação do valor de pH utilizou-se um equipamento medidor de pH, colocando o eléctrodo num tubo eppendorf que continha 40µl da amostra a analisar.

A pureza radioquímica foi determinada por CCF. Para tal, colocaram-se 2µl de cada amostra em tiras de sílica gel 60 com 5x10cm. Como fase móvel utilizou-se acetonitrilo:água (95:5) [Rf(<sup>18</sup>F)=0,0; Rf(<sup>18</sup>F-FDG)=0,45]<sup>5</sup>. A tira foi medida num radiocromatógrafo.

### Estatística descritiva

Os dados foram analisados com recurso ao software estatístico SPSS (PASW Statistics 17.0). Para análise das variáveis recorreu-se ao coeficiente de correlação de Pearson entre a temperatura e a CR.

## Resultados

Os resultados registam um aumento da percentagem de <sup>18</sup>F ao longo do tempo e em todas as CR (cf. Gráfico 1). A única excepção observa-se na CR 1156,25 MBq/ml, visto existir um decréscimo deste valor à temperatura de 21° C. Além disso, todas as correlações entre a temperatura e a CR são fortes, sendo que a que apresenta valores de correlação mais elevados corresponde à CR de 740 MBq/ml (cf. Tabela 1).

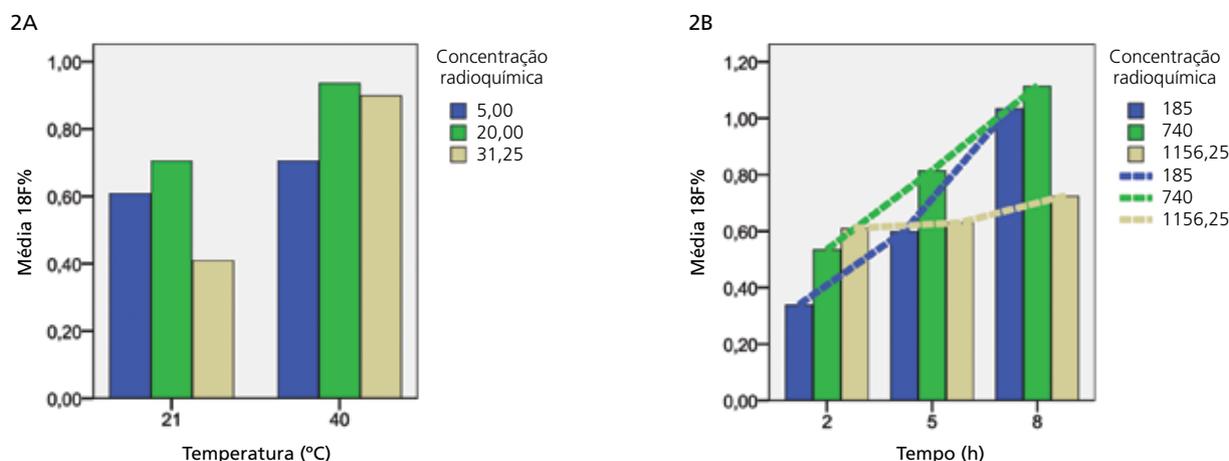
Outro resultado a registar (cf. Tabela 2) é o aumento da média da percentagem de <sup>18</sup>F à temperatura de 21° C

Tabela 1: Correlação entre a temperatura e a CR

Temp (°C)	CR (MBq/ml)		
	185	740	1156,25
21	R <sup>2</sup> =0,921	R <sup>2</sup> =0,969	R <sup>2</sup> =0,75
40	R <sup>2</sup> =0,678	R <sup>2</sup> =0,998	R <sup>2</sup> =0,974

Tabela 2: Média da %<sup>18</sup>F obtida a cada tempo (2,5 e 8h) para as diferentes CR e temperaturas

Concentração radioactiva (MBq/ml)	21°C		40°C	
	Média % <sup>18</sup> F	Desvio padrão	Média % <sup>18</sup> F	Desvio padrão
185	0,6100	0,40112	0,7067	0,37647
740	0,7067	0,11060	0,9367	0,47057
1156,25	0,4100	0,17321	0,9000	0,26851

Gráficos 2A) Variação da média da %<sup>18</sup>F-, para cada CR, ao longo do tempo e 2B) a diferentes temperaturas.

(185 MBq/ml:0,6100; 740 MBq/ml:0,7067; 1156,25 MBq/ml:0,4100) relativamente aos valores observados a 40° C (185 MBq/ml:0,7067; 740 MBq/ml:0,9367; 1156,25 MBq/ml:0,9000). Para ambas as temperaturas verifica-se que os valores médios mais elevados da percentagem de <sup>18</sup>F correspondem à CR de 740MBq/ml (cf. Gráfico 2B). Verifica-se ainda que, à medida que o tempo aumenta, a percentagem de <sup>18</sup>F também aumenta (cf. Gráfico 2A).

Relativamente à medição de pH, verificou-se que os valores obtidos variaram entre 5,414 e 6,628.

## Discussão

O presente estudo pretende demonstrar a influência da temperatura, CR, pH e tempo na estabilidade da <sup>18</sup>F-FDG. Para tal, analisaram-se as percentagens de <sup>18</sup>F, produto resultante da decomposição deste radiofármaco.

Os dados relativos à temperatura revelam um aumento da média da percentagem de <sup>18</sup>F quando esta se encontra mais elevada, parecendo afectar de um modo mais acentuado as CR mais elevadas. Meyer<sup>6</sup> apresenta resultados que são concordantes com os resultados obtidos quando afirma que

a epimerização do <sup>18</sup>F-FDG se dá mais rapidamente em soluções submetidas a temperaturas mais elevadas.

Em relação à CR, o estudo demonstra que a amostra de 740 MBq/ml é aquela que apresenta maior percentagem de <sup>18</sup>F. Esta conclusão não é concordante com a de outros autores que afirmam que as amostras diluídas (com menor CR) são as que apresentam menor percentagem de <sup>18</sup>F. Um desses autores é Jimenez Romero<sup>1</sup> que analisou a influência do tempo e da CR no <sup>18</sup>F-FDG e concluiu que as amostras diluídas estavam menos dispostas à decomposição do <sup>18</sup>F-FDG. Jacobson<sup>3</sup>, por sua vez, ao tentar demonstrar a relação dos níveis de etanol com a estabilidade do <sup>18</sup>F-FDG, comprova que qualquer diluição diminui a taxa de radiólise com um factor aproximado de dois. Fawdry<sup>5</sup>, na pesquisa do papel dos diferentes estabilizadores, observa, através do cálculo da dose absorvida, a relação entre a produção de peróxido de hidrogénio, que afecta a estabilidade da <sup>18</sup>F-FDG, e a CR. Contudo, se no presente estudo for excluída a amostra com a CR mais elevada e se se analisarem apenas as amostras com CR 740 MBq/ml e 185 MBq/ml regista-se um aumento na %<sup>18</sup>F quando aumenta a CR. Sendo assim, apenas com estas duas CR se pode afirmar que existe uma

relação positiva entre a percentagem de  $^{18}\text{F}$  e a CR.

Esta não concordância de resultados poderá estar relacionada, pelo facto de a CR utilizada nos estudos supracitados ser superior às utilizadas no presente estudo (629-10508 MBq/ml<sup>1</sup>; 740-14245 MBq/ml<sup>3</sup>; 6290-11470 MBq/ml<sup>5</sup>).

A medição do valor de pH das diferentes amostras revelou flutuações ao longo do tempo, das concentrações e da temperatura. Isto poderá dever-se aos produtos que se formam aquando da autoradiólise: arabinose, ácido glucónico, ácido 2-fluoroglucónico, ácido 2-fluoroglucorónico, ácido arabónico, ácido araburónico e glucose residual<sup>7</sup>. Contudo, Karwath<sup>8</sup>, ao tentar implementar a técnica de esterilização a vapor, mostrou a influência da CR, do tempo e do pH na amostra do  $^{18}\text{F}$ -FDG. Os resultados demonstram que a pH inferiores a 6 se regista um menor nível de epimerização do  $^{18}\text{F}$ -FDG, dando como referência o valor de pH de 5,5 como sendo aquele que tem um bom compromisso entre a decomposição do produto e ficando dentro do limite estipulado pela farmacopeia (valor de pH deverá encontrar-se entre 4,5 e 8,5)<sup>8</sup>.

Segundo a análise gráfica e os resultados obtidos verifica-se um aumento da percentagem de  $^{18}\text{F}$  ao longo do tempo. Contudo, foi analisada a pureza radioquímica das amostras ao longo de 8 horas e esta manteve-se dentro dos valores aceitáveis pela farmacopeia europeia. Essa percentagem é menos acentuada quando a CR inicial é de 1156,25 MBq/ml. Jacobson<sup>3</sup> demonstrou a existência da decomposição da  $^{18}\text{F}$ -FDG ao longo do tempo. Jimenez Romero<sup>1</sup>, por sua vez, mostrou também um aumento da percentagem de  $^{18}\text{F}$  ao longo do tempo. Além disso, Hung<sup>9</sup>, ao descrever os diversos procedimentos de controlo de qualidade do  $^{18}\text{F}$ -FDG, afirma que este radiofármaco não deve ser usado depois de 6 a 8 horas depois da síntese (i.e., 3 a 4 períodos de semi-desintegração do  $^{18}\text{F}$ ), devido à degradação do composto.

Foram encontradas algumas limitações no estudo experimental realizado. Essas limitações estão relacionadas com o pequeno número de amostras, o que poderá ter levado a erros estatísticos. Além disso, se fosse possível realizar a cromatografia líquida de alta pressão (CLAP) haveria um padrão de comparação dos resultados, o que permitiria uma maior certeza das conclusões retiradas. No entanto, não foi possível realizar esta técnica devido ao baixo número de contagens às 5 e 8 horas que levaria a resultados de pureza radioquímica erróneos.

## Conclusões

Apesar dos resultados em relação à CR não corresponderem exactamente ao esperado, tendo em conta as limitações do estudo, é aconselhado realizar diluição da solução de  $^{18}\text{F}$ -FDG. Além disso, é importante ter em atenção o tempo entre o fim da síntese e a administração do radiofármaco para uma boa qualidade do exame. É também aconselhável manter a solução a temperatura ambiente. Com as conclusões retiradas, poder-se-á também otimizar a solução, encontrando opções que estabilizem o pH abaixo de 6 e

evitando, assim, um aumento da autoradiólise do  $^{18}\text{F}$ -FDG. Aconselha-se, por fim, a testar a pureza radioquímica se se pretender injectar o radiofármaco depois das 8 horas para garantir a qualidade do exame.

No aprofundamento do tema seria interessante estudar a influência da pressão e da agitação das amostras na estabilidade do  $^{18}\text{F}$ -FDG, visto que são factores aos quais as amostras estão expostas durante as viagens entre os centros PET e os laboratórios de produção do  $^{18}\text{F}$ -FDG.

## Referências Bibliográficas

1. Jiménez Romero IR, Roca Engronyat M, Campos Anón F, Cordero Ramajo J, Liarte Trías I, Benítez Segura A, et al. Influencia de la concentración radioactiva y el tiempo de almacenamiento sobre la pureza radioquímica de la 2-[ $^{18}\text{F}$ ]-fluoro-2-desoxi-D-glucosa [ $^{18}\text{F}$ ]-fluoro-2-desoxi-D-glucosa influence of radioactive concentration and storage time on radiochemical purity of 18f-fdg]. *Rev Esp Med Nucl*. 2006;25(1):20-5. Spanish
2. European Directorate for the Quality of Medicines. European pharmacopoeia. 6th ed. Paris: Council of Europe; 2007. ISBN-13: 9789287160614
3. Jacobson MS, Dankwart HR, Mahoney DW. Radiolysis of 2-[ $^{18}\text{F}$ ]-fluoro-2-desoxi-D-glucose ([ $^{18}\text{F}$ ]-FDG) and the role of ethanol and radioactive concentration. *Appl Radiat Isot*. 2009;67(6):990-5.
4. Kiselev MY, Tadino V, inventors; Eastern Isotopes, Inc., assignee. Stabilization of radiopharmaceuticals labeled with 18-F. United States Patent US 7,018,614 B2. 2006 Mar 28.
5. Fawdry RM. Radiolysis of 2-[ $^{18}\text{F}$ ]-fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG) and the role of reductant stabilisers. *Appl Radiat Isot*. 2007;65(11):1193-201.
6. Meyer GJ, Matzke KH, Hamacher K, Füchtner F, Steinbach J, Notohamprodo G, et al. The stability of 2-[ $^{18}\text{F}$ ]-fluoro-2-deoxy-D-glucose towards epimerisation under alkaline conditions. *Appl Radiat Isot*. 1999;51(1):37-41.
7. Búriová E, Macásek F, Melichar F, Kropáček M, Procházka L. Autoradiolysis of the 2-[ $^{18}\text{F}$ ]-fluoro-2-deoxy-D-glucose radiopharmaceutical. *J Radioanal Nucl Chem*. 2005;264(3):595-602.
8. Karwath P, Sartor J, Gries W, Wodarski C, Dittmar C, Biersack HJ, et al. Steam sterilization and automatic dispensing of [ $^{18}\text{F}$ ]fluorodeoxyglucose (FDG) for injection. *Appl Radiat Isot*. 2005;62(4):577-86.
9. Hung JC. Comparison of various requirements of the quality assurance procedures for 18F-FDG injection. *J Nucl Med*. 2002;43(11):1495-506.

## Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio prestado pela Área Científica de Medicina Nuclear da ESTeSL e pelos profissionais do Serviço de Medicina Nuclear do Hospital Infanta Cristina (Badajoz).

Artigo recebido em 09.12.2009 e aprovado em 07.01.2011.