



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ



XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO QUECHERS UPLC-MS/MS PARA A DETERMINAÇÃO DE 21 DROGAS DE INTERESSE TOXICOLÓGICO
Autor	LUIZ PAULO PUGEN DALPIAZ
Orientador	RAFAEL LINDEN

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO QUECHERS UPLC-MS/MS PARA A DETERMINAÇÃO DE 21 DROGAS DE INTERESSE TOXICOLÓGICO

Cristiane Pires da Silva, Luiz Paulo Pugen Dalpiaz, Victória Vendramini Muller, Fernando Engel Gerbase, Marina Venzon Antunes
Rafael Linden
Universidade Feevale

Introdução: Desenvolvido para análises de multirresíduos em vegetais, o método QuEChERS (Rápido, Fácil, Barato, Eficaz, Robusto, Seguro) vem sendo utilizado também em análises toxicológicas humanas como alternativa aos métodos convencionais de extração (extração líquido-líquido, precipitação de proteínas e extração em fase sólida). O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um ensaio para determinação de 21 fármacos e metabólitos relevantes no contexto da toxicologia de emergência (benzodiazepínicos, opioides, anfetaminas, antidepressivos e metabólitos da cocaína), utilizando o método QuEChERS em sangue total, seguido de análise por cromatografia líquida e ultra eficiência associada a espectrometria de massas sequencial (UPLC-MS/MS).

Método: Em tubo de polipropileno foram adicionados 250µL de sangue total e 20µL de uma solução de trimipramina-D3 ($0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$), como padrão interno. Após homogeneização em vórtex, foram adicionados 500 µL de acetonitrila resfriada, uma esfera de aço de 5mm e 100 mg de uma mistura de sais iônicos composta por sulfato de magnésio, cloreto de sódio e citrato de sódio dihidratado (4:1:1 m/m/m). Após homogeneização, os tubos foram centrifugados a 13.000 rpm durante 10 min e 300 µL do sobrenadante foram transferidos para outro tubo e evaporados a 45 °C. O extrato seco foi retomado com 200 µL de fase móvel inicial (mistura de formiato de amônio 5mM pH 3,0 e acetonitrila contendo 0,1% de ácido fórmico na proporção 83:17, v/v) sendo 2 µL injetados no sistema UPLC-MS/MS. A separação cromatográfica ocorreu em coluna Acquity HSS C18 (150 x 2,1 mm, d.p. 1,8 µm), mantida a 50 °C. A eluição em gradiente teve a duração de 15 min. Foram monitoradas duas transições de massa para cada composto. Linearidade, precisão, exatidão, estabilidade e efeitos de matriz foram avaliados. O ensaio foi aplicado a amostras de sangue de 130 pacientes com traumas diversos admitidos em um hospital da região.

Resultados: O método foi linear nas concentrações de 25 a 1.000 ng mL⁻¹, com exatidão de 92,2 a 104,6%, precisão intra-ensaio entre 1,3 e 10,2%, precisão inter-ensaio entre 2,0 e 11,9% e rendimento médio da extração variando de 60,6 a 97,7%. O efeito matriz variou de 2,7 a +4,4%, com exceção dos compostos com eluição precoce como a codeína (-35,4 a 28,2%) e EME (+15,9 a +17,9%). Os resultados da estabilidade de bancada (10h) variaram de -12,04 a 9,34%. Entre as 130 amostras de sangue testadas, 24 tiveram resultados positivos. Os compostos detectados com maior frequência foram os metabólitos de cocaína (11 amostras) e benzodiazepínicos (9 amostras).

Conclusões: O método de extração QuEChERS para determinação de múltiplos fármacos e metabólitos foi desenvolvido e validado, apresentando características aceitáveis para aplicação na toxicologia clínica e forense.