

## DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO BIOANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE BUSSULFANO POR HPLC/UV

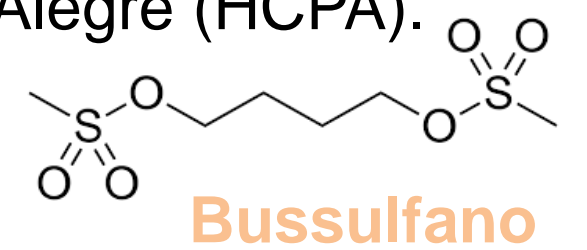
Carolina Backes Streich<sup>1</sup>, Teresa Dalla Costa<sup>1</sup>

Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul<sup>1</sup>

### INTRODUÇÃO

O bussulfano (BU) é um agente alquilante utilizado para o condicionamento terapêutico do transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) allogênicos e autólogo. Por ser um procedimento muito agressivo, o condicionamento é de grande importância e tem como principal objetivo preparar o paciente para recebimento das novas células. Altas concentrações plasmáticas de BU são associadas à toxicidade enquanto que em concentrações baixas, tem-se a possibilidade de ocorrer falha do enxerto devido à rejeição<sup>1</sup>.

Nesse contexto, o monitoramento terapêutico das concentrações plasmáticas em paciente que fazem condicionamento com BU é fundamental para o ajuste de dose<sup>1</sup>. O objetivo dessa etapa do projeto foi avaliar metodologias CL/UV descritas na literatura buscando a mais adequada para implantação na rotina de monitoramento terapêutico do BU no Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).



### METODOLOGIA

Foram testadas três metodologias bioanalíticas para quantificação de BU em amostra de plasma humano.

#### Método 1

- Derivatização do BU com dietilditiocarbamato de sódio 8,2% (DDTC) a temperatura ambiente;
- Precipitação de proteínas do plasma com acetonitrila;
- Extração líquido-líquido com acetato de etila;
- Secagem do sobrenadante a 50 °C com arraste de nitrogênio<sup>2</sup>.

#### Método 2

- Precipitação de proteínas com metanol;
- Derivatização do BU com DDTC 5% e acetato de amônio 10 µM/pH6,5 à temperatura ambiente;
- Extração líquido-líquido com acetato de etila;
- Evaporação a 50 °C com arraste de nitrogênio<sup>3</sup>.

#### Método 3

- Precipitação de proteínas com acetonitrila;
- Derivatização com DDTC 2,2 M a 20 °C por 20 min.;
- Extração líquido-líquido com éter metil terc-butílico (MTBE)
- Evaporação a 50 °C com a arraste de nitrogênio<sup>4</sup>.

Nos três métodos foi utilizado: 1,6-bis-(metanosulfonilo)-hexano como padrão interno (PI). As amostras foram analisadas por CL/UV utilizando coluna de fase reversa C<sub>18</sub> (50 x 2,1mm), fase móvel com metanol, acetonitrila e água em diferentes proporções, num fluxo de 0,4 mL/min e detecção UV com aquisição do espectro para todos os picos na faixa de 177 a 800 nm com monitoramento cromatográfico em 254 e 277 nm.

### RESULTADOS

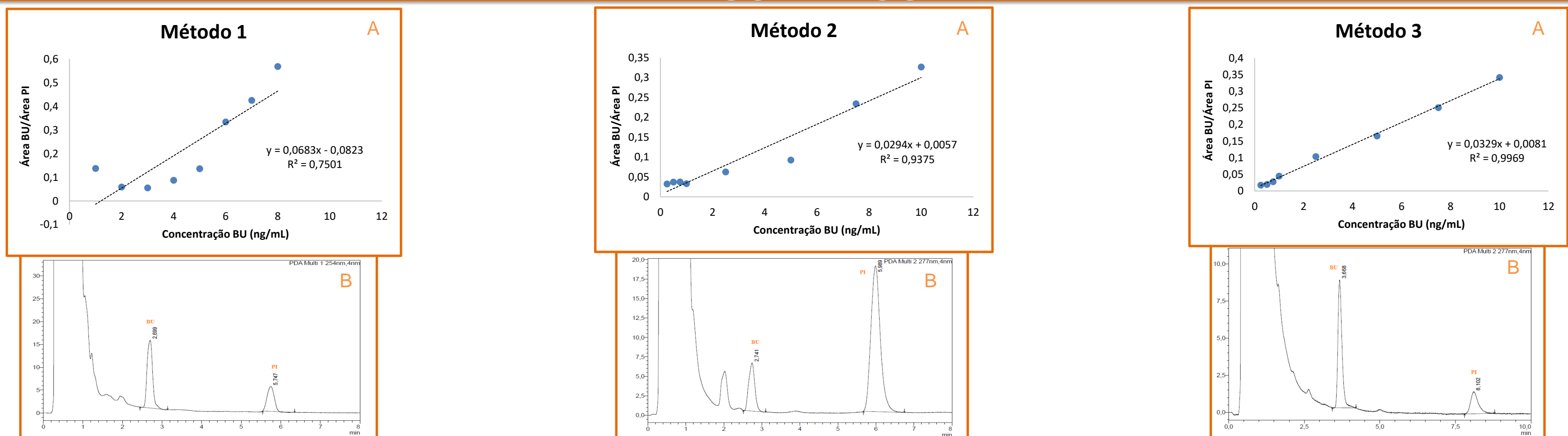


Figura 1. Curvas de calibração (A) e cromatogramas (B) dos três métodos investigados. Nas curvas de calibração a faixa de concentração foi 0,25 - 10 ng/mL. Nos cromatogramas pode-se visualizar o BU (10 ng/mL) e PI (5 ng/mL).

### CONCLUSÃO

A metodologia descrita por Backes et al. (2012) modificada foi a mais adequada para quantificação de BU nas nossas condições do laboratório, pois gerou curvas de calibração dentro dos limites preconizados para métodos bioanalítico<sup>5</sup>. Como perspectiva, o método será validado para ser utilizado na rotina do monitoramento terapêutico do BU no HCPA.

### REFERÊNCIAS

1. BARTELINK, I.H. et al. *Lancet Haematology*, v. 3, n. 11, p. e526-e536, 2016.
2. EFFTING, C. *Monitoração terapêutica do bussulfano oral, após uso de dose teste e durante condicionamento, em pacientes submetidos à transplante halogênico de células-tronco hematopoiéticas*. Tese Doutorado em Ciências da Saúde – UFG, 137 f., 2012;
3. RIFAI, N. et al. *Ther Drug Monit*. 1997;19:169-174.
4. BACKES, C. F. et al. *Química Nova* [online]. 2012, vol.35, n.7
5. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **RDC 27/2012**, de 17 de maio de 2012.

### AGRADECIMENTOS

