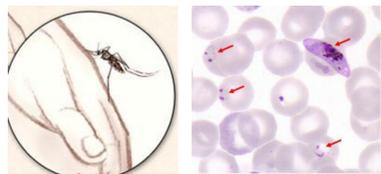


## VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE EM-EM PARA DOSEAMENTO DO CANDIDATO A FÁRMACO LAFIS10 EM PLASMA E APLICAÇÃO EM ESTUDO PRELIMINAR DE FARMACOCINÉTICA

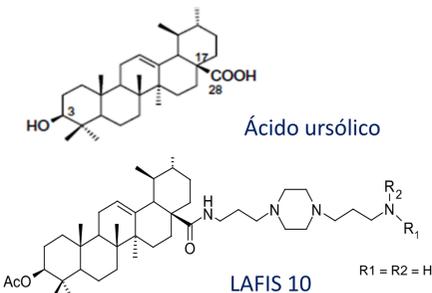
Graziela de Araújo Lock<sup>1</sup>, João Victor Laureano<sup>2</sup>, Fabiano Barreto<sup>2</sup>, Simone Gnoatto<sup>1,2</sup>, Bibiana Verlindo de Araújo<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Farmácia – UFRGS, <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – UFRGS  
graziela\_lock@yahoo.com.br

### INTRODUÇÃO



A Malária é uma doença tropical, atingindo potencialmente cerca de 40% da população mundial. Sua transmissão ocorre através da picada da fêmea do mosquito *Anopheles* infectada pelo protozoário do gênero *Plasmodium*. Dentre as espécies existentes, a sintomatologia e o desenvolvimento da doença são mais graves quando trata-se do *P. Falciparum*: resistente a certos agentes antimaláricos, essa espécie constitui uma das maiores barreiras para o bem sucedido manejo da doença nas áreas endêmicas, visto o desenvolvimento de resistência aos antimaláricos já existentes. Em 2008, a partir da molécula de ácido ursólico, Gnoatto et al. do Núcleo de Pesquisa da UFRGS, sintetizaram uma série de derivados, cuja adição do grupamento piperazinil possibilitou, através de testes *in vitro*, a verificação do seu efeito antimalárico sobre as cepas de *Plasmodium falciparum*. Dentre essas moléculas, destacou-se o candidato a fármaco LAFIS 10 (N-3-4-3-Bis(4-hidroxibenzil-amino-propilpiperazinilpropyl-3-O-acetilursolamida), principalmente por atuar sobre cepas resistentes à cloroquina, sendo então selecionado para avaliação de seu perfil farmacocinético dadas as suas características promissoras.



### OBJETIVOS

Desenvolver e validar metodologia analítica a fim de determinar as concentrações plasmáticas totais de LAFIS 10 em uma primeira avaliação farmacocinética pré-clínica através da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas.

### METODOLOGIA

#### Validação de Metodologia Bioanalítica

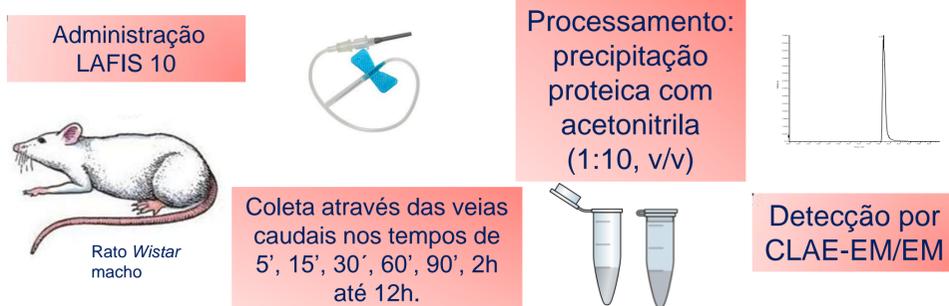
- Exatidão por precipitação de proteínas



Aprovação CEUA 21979

#### Avaliação Farmacocinética:

- Ensaios-Piloto (Aplicabilidade do Método Bioanalítico)



### RESULTADOS

O tempo de retenção para o LAFIS10 foi de aproximadamente 6,1 min (Figura 1). O método mostrou-se linear para as concentrações na faixa de 10 e 1000 ng/mL ( $r \geq 0,99$ ). O limite de quantificação foi de 10 ng/mL. A precisão intra-dia para os controles de qualidade (30, 550 e 850 ng/mL) variou de 5,88% para 7,24% para o primeiro dia e de 3,86% para 8,64% para o segundo dia. A variação inter-dia foi de 2,31% para 5,89%. A precisão foi superior 97,90%. O intervalo de linearidade pode ser observado na Figura 2.

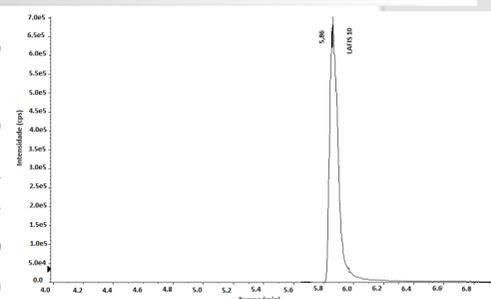


Figura 1. Perfil Cromatográfico do LAFIS 10 para a dose de 500ng/mL

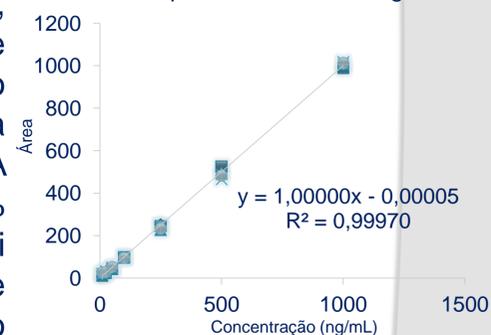


Figura 2. Curva de linearidade para o LAFIS 10 em plasma (n = 6), 10-1000ng/mL

Na Tabela 1, tem-se os valores obtidos pela avaliação não-compartimental dos parâmetros farmacocinéticos utilizando a metodologia descrita, que possibilitou a obtenção do perfil plasmático médio para o LAFIS 10 (Figura 3)

Tabela 1. Parâmetros Farmacocinéticos do LAFIS 10 para dose 2,5 mg / Kg i.v .

| Parâmetros Farmacocinéticos    | Média ± DP     |
|--------------------------------|----------------|
| $\lambda$ (h <sup>-1</sup> )   | 1,45 ± 0,51    |
| $t_{1/2}$ (h)                  | 7,5 ± 2,5      |
| AUC <sub>0-inf</sub> (ng.h/mL) | 1801,3 ± 596,2 |
| MRT (h)                        | 2,8 ± 1,7      |
| CL <sub>total</sub> (L/h/kg)   | 1,5 ± 0,6      |

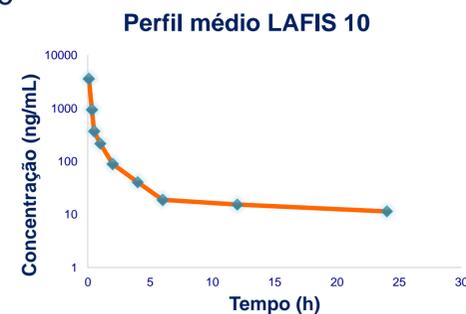


Figura 3. Perfil plasmático médio do LAFIS 10 para a dose de 2,5 mg/Kg em ratos Wistar (n=6).

### CONCLUSÕES

- O método foi validado observando os parâmetros de especificidade, linearidade, precisão e exatidão de acordo com as diretrizes preconizadas pelo FDA.
- Permitiu a quantificação do LAFIS 10 sem interferentes, de maneira que possibilitou a caracterização do perfil farmacocinético.

#### Referências:

- Dalla-Vechia, L. *Letters in Organic Chemistry*, 9, 92-95, 2012.
- Mullié, C. *Experimental Parasitology* 125 202–207, 2010.
- Gnoatto, S.C.B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.16, p.771 - 782, 2008.
- FDA Guidance for Industry, *Bioanalytical Method Validation*, May 2001.
- Malaria Journal* 8(Suppl 1):S2/ 2009.