



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2013
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE EM-EM PARA DOSEAMENTO DO CANDIDATO A FÁRMACO LAFIS10 EM PLASMA E APLICAÇÃO EM ESTUDO PRELIMINAR DE FARMACOCINÉTICA
<b>Autor</b>	GRAZIELA DE ARAÚJO LOCK
<b>Orientador</b>	BIBIANA VERLINDO DE ARAUJO

A Malária é uma doença infecciosa febril aguda, cujo agente etiológico é o parasita do gênero *Plasmodium*. A transmissão ocorre através da picada da fêmea do mosquito *Anopheles* infectada. A espécie cuja sintomatologia e desenvolvimento da doença é mais grave, o *P. falciparum* que tem se mostrado resistente a certos agentes antimaláricos, constituindo uma das maiores barreiras para o bem sucedido manejo da doença nas áreas endêmicas, o que contribuiu para o aumento de mortes devido o agravamento da doença. Em 2008, Gnoatto et al. do Núcleo de Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sintetizaram uma série de novos derivados piperazínicos do ácido ursólico, cujos testes *in vitro* avaliaram o seu efeito sobre as cepas de *Plasmodium falciparum*. Dentre estes compostos, o candidato a fármaco LAFIS 10 (N-{3-[4-(3-(Bis(4-hydroxybenzyl)amino)propyl)piperazinyl]propyl}-3-O-acetylursolamide), demonstrou atividade antimalárica contra cepas de *P. falciparum* resistentes à cloroquina, sendo então selecionado para avaliação de seu perfil farmacocinético. O presente estudo descreve um método analítico usando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem aplicada para determinação das concentrações plasmáticas totais de LAFIS10 em amostras de ratos, em uma primeira avaliação farmacocinética pré-clínica.

Os experimentos envolvendo animais foram aprovados pela comissão de Ética em uso de Animais (CEUA) da UFRGS (#21979). Para validação das amostras biológicas foram utilizados os parâmetros preconizados pela FDA (Food and Drug Administration). A metodologia foi desenvolvida em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência acoplado a espectrômetro de massas (CLAE /EM-EM), utilizando coluna Phenomenex Luna C18 (50 mm x 2,0 mm ) e gradiente de eluição com fase móvel constituída de 0,1% de ácido fórmico em acetonitrila e água ultrapura utilizando fluxo de 0,3 mL/min. O volume de injeção foi de 5 µL para as amostras. O espectrômetro de massa triplo quadrupolo, operando em electrospray positivo (ES+), foi ajustado em modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM), monitorando a transição de 681,47 > 538,2 para LAFIS10. O candidato a fármaco foi adicionado às amostras de plasma branco de rato a fim de obter a curva de calibração (concentrações variando de 10 a 1000 ng/mL) e as proteínas foram removidas através da precipitação com acetonitrila (1:10, v/v). Os parâmetros analíticos avaliados foram linearidade, limite de quantificação, precisão e exatidão, obtidos a partir de curvas padrão e controles de qualidade. O tempo de retenção para o LAFIS10 foi de aproximadamente 6,1 min. O método mostrou-se linear para as concentrações compreendidas entre 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 método foi validado de acordo com as diretrizes do FDA, permitindo a análise de volume pequeno de amostras, especialmente importante na análise pré-clínica. De posse da metodologia validada, partimos para os experimentos de avaliação farmacocinética do LAFIS10 em ratos machos Wistar por meio da coleta de sangue pela veia caudal.