

OTIMIZAÇÃO DE UMA METODOLOGIA POR MICROEXTRAÇÃO EM SERINGA EMPACOTADA E CROMATOGRÁFIA GASOSA-ESPECTROMETRIA DE MASSA EM TANDEM PARA A IDENTIFICAÇÃO DE ARILCICLOHEXAMINAS EM AMOSTRAS DE CABELO

Patrik Oliveira¹, Ana Y. Simão^{1,2}, Luana M. Rosendo¹, Soraia I. Pedro^{3,4}, T. Rosado^{1,2}, Maristela Andraus⁵, Mário Barroso⁶, Eugenia Gallardo^{1,2}

¹ Centro de Investigação de Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde, universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal

² Laboratório de Fármaco-Toxicologia, UBIMedical, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal

³ Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior, Quinta da Senhora de Mércules, Castelo Branco, Portugal

⁴ Centro de Estudos Florestais (CEF), Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, Lisboa, Portugal

⁵ Chromatox/Dasa Laboratory Ltda. Sumaré, São Paulo, Brasil

⁶ Serviço de Química e Toxicologia Forenses, Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses- Delegação do Sul, Lisboa, Portugal

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

As novas substâncias psicoativas (NPS) têm vindo a tornar-se um problema cada vez mais um problema de saúde pública. Em Portugal, a ketamina (KET) entrou para a lista de NSP com o Decreto-Lei nº 54/2013. Inicialmente sintetizada com o intuito de substituir a fenciclidina (PCP) como anestésico, acabou por ser usada recreativamente devido aos seus efeitos alucinogénios e estimulantes. Recentemente, a esketamina (análogo da KET) foi introduzida com finalidade terapêutica no tratamento de depressão major refractária a outra terapêutica. Para distinguir o consumo terapêutico do recreativo é necessário que existam métodos que para a sua deteção e quantificação. Neste trabalho foi desenvolvido e otimizado um método para a deteção de KET e seu metabolito (norketamina – NK) em amostras de cabelo com recurso à microextração em seringa empacotada (MEPS) e cromatografia de gases acoplada à espectrometria de massa em tandem (GC-MS/MS).

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

MATERIAL E MÉTODOS

Padrões analíticos: KET e NK (LGC Promochem)

Padrões internos: KET-d₄ e NK-d₄ (LGC Promochem)

Matéria biológica: cabelo

MEPS: seringa MEPS de 250 µL e cartuchos de extração C₈+SCX (ILC)

GC-MS/MS: Cromatógrafo de gases Agilent Technologies modelo HP 7890A acoplado a um espectrómetro de massa triplu quadrupolo Agilent Technologies modelo 7000B Soquímica)

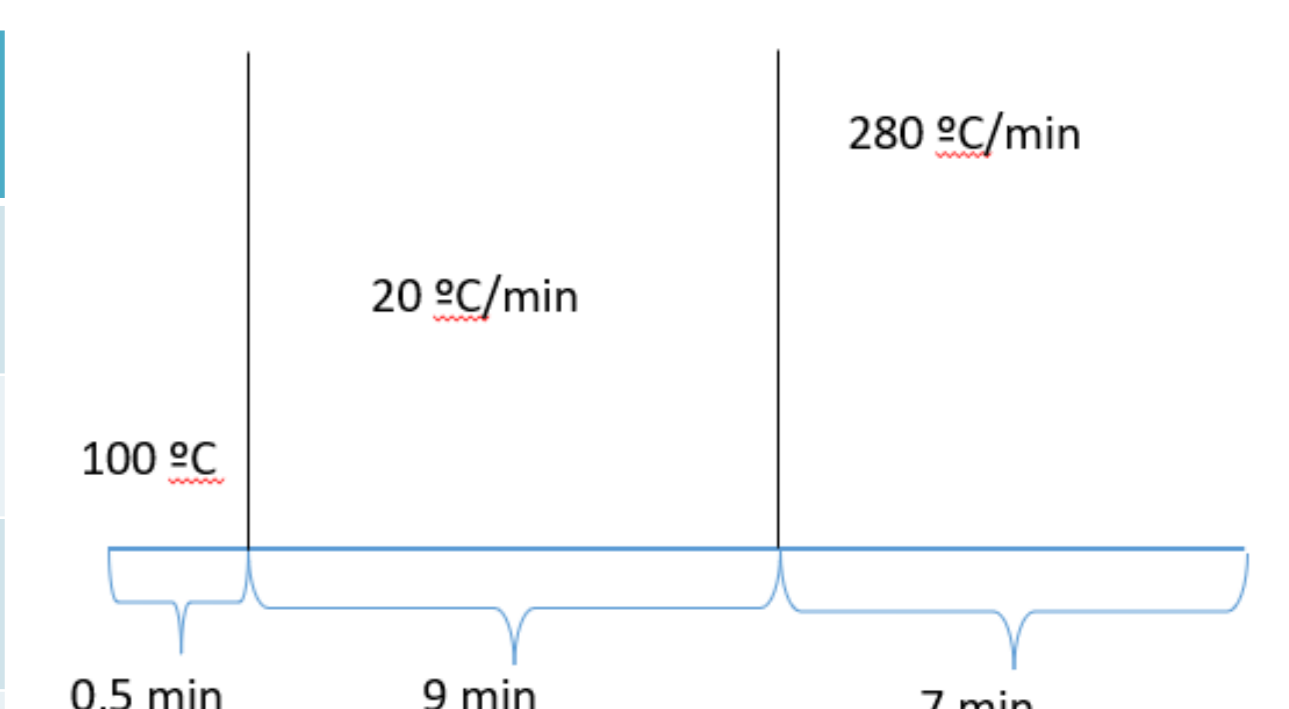
Coluna Capilar: 5% de fenilmetil siloxano (30 m x 0,25 mm I.D., 0,25-µm de espessura de película) (J & W Scientific)



CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS E ESPETROMÉTRICAS

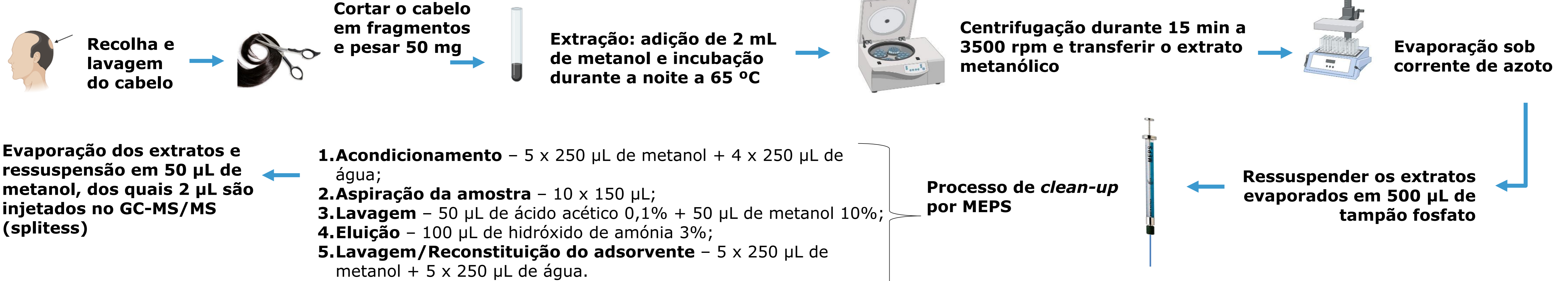
Composto	Tempo de retenção (min)	Transições (m/z)	Energia de colisão (eV)	Dwell time (µs)
KET	8,36	181,0 – 151,0* 181,0 – 116,1	10	50
Ket-D ₄	8,35	183,7 – 155,0	5	50
NK	8,18	194,4 – 131,0* 194,4 – 166,1	10	50
NK-D ₄	8,17	169,8 – 135,2	10	50

*Transição quantificadora



- Temperatura do injetor e detetor: 250 °C e 280 °C, respetivamente;
- Fluxo de hélio: 0,8 mL/min;
- Modo de impacto eletrónico a 70 eV.

PROCEDIMENTO



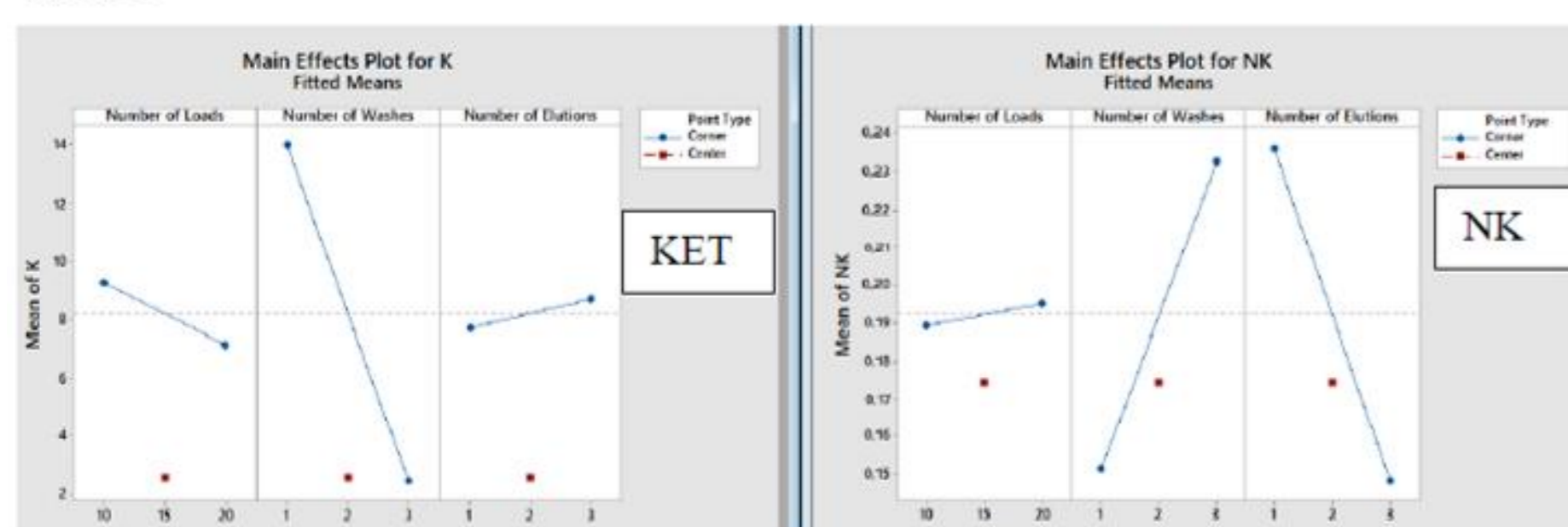
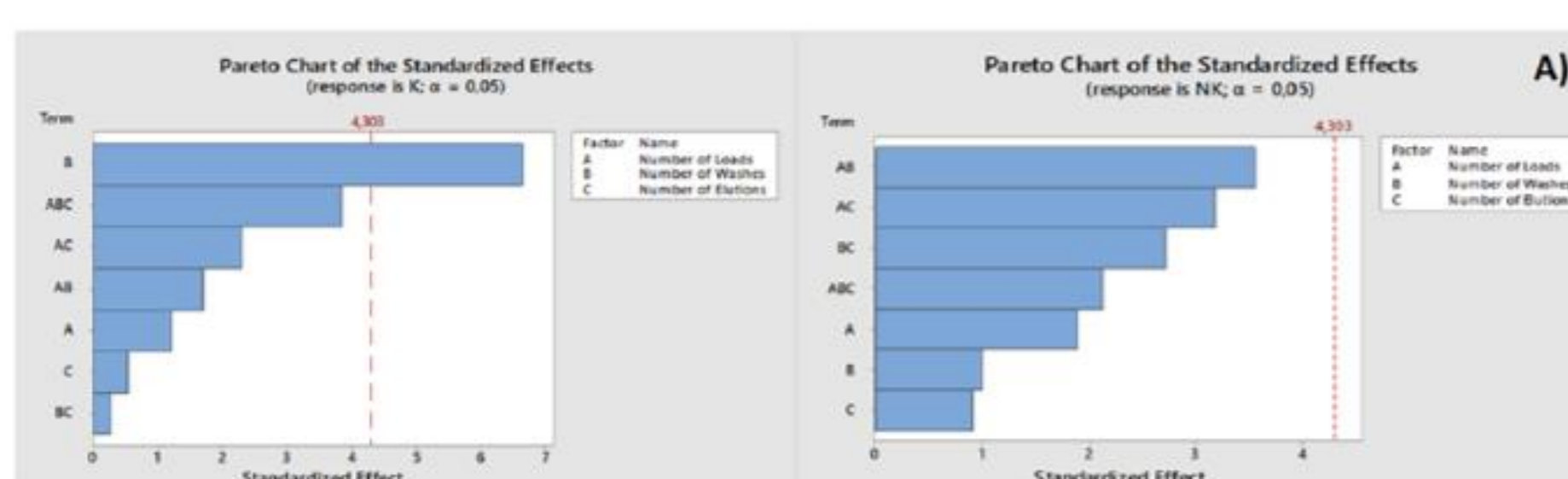
RESULTADOS

OTIMIZAÇÃO DA MEPS

DOE

- Foram avaliados 3 fatores:
- Nº de lavagens da amostra;
 - Nº de eluições

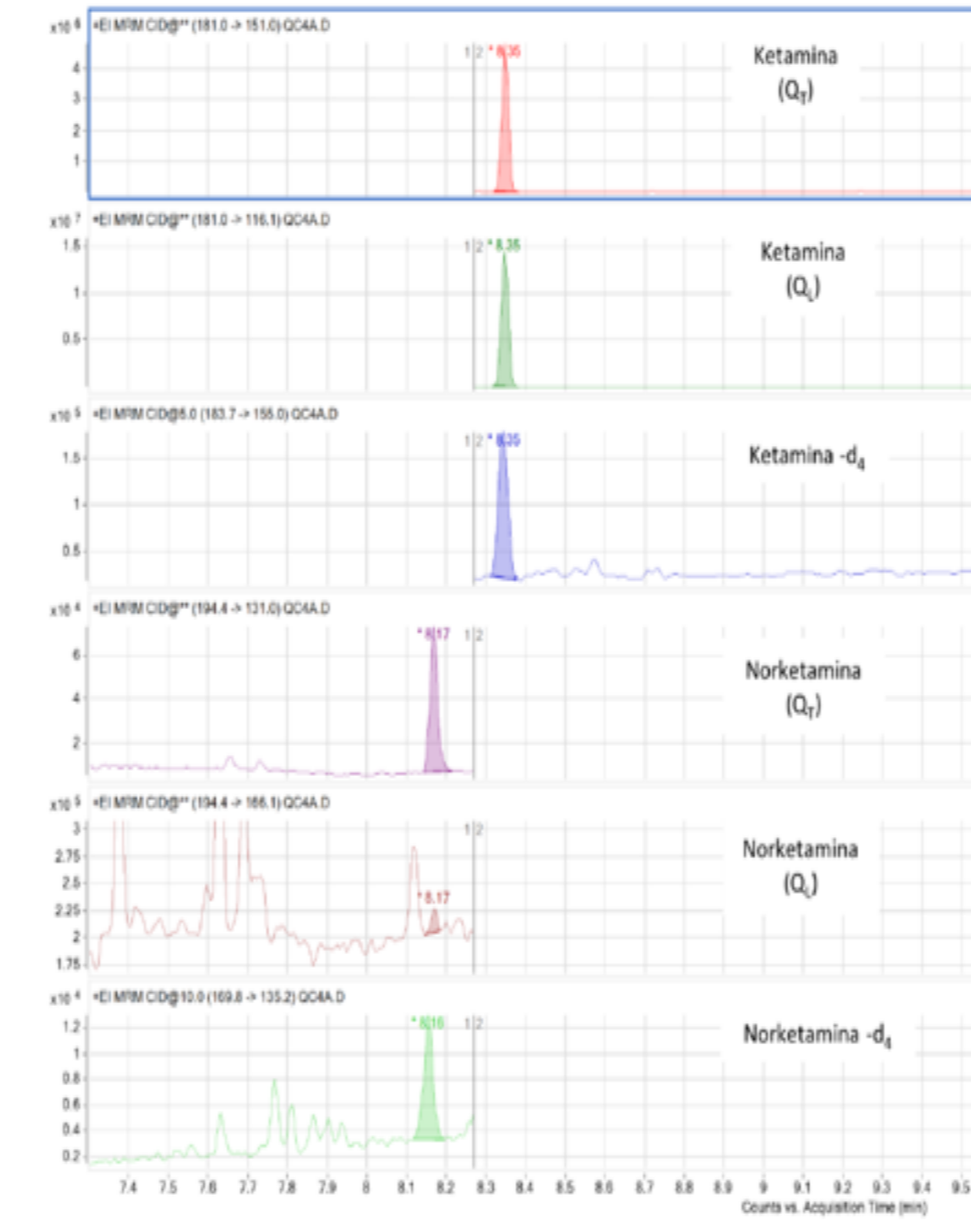
Foram analisados os gráficos de pareto e dos principais fatores



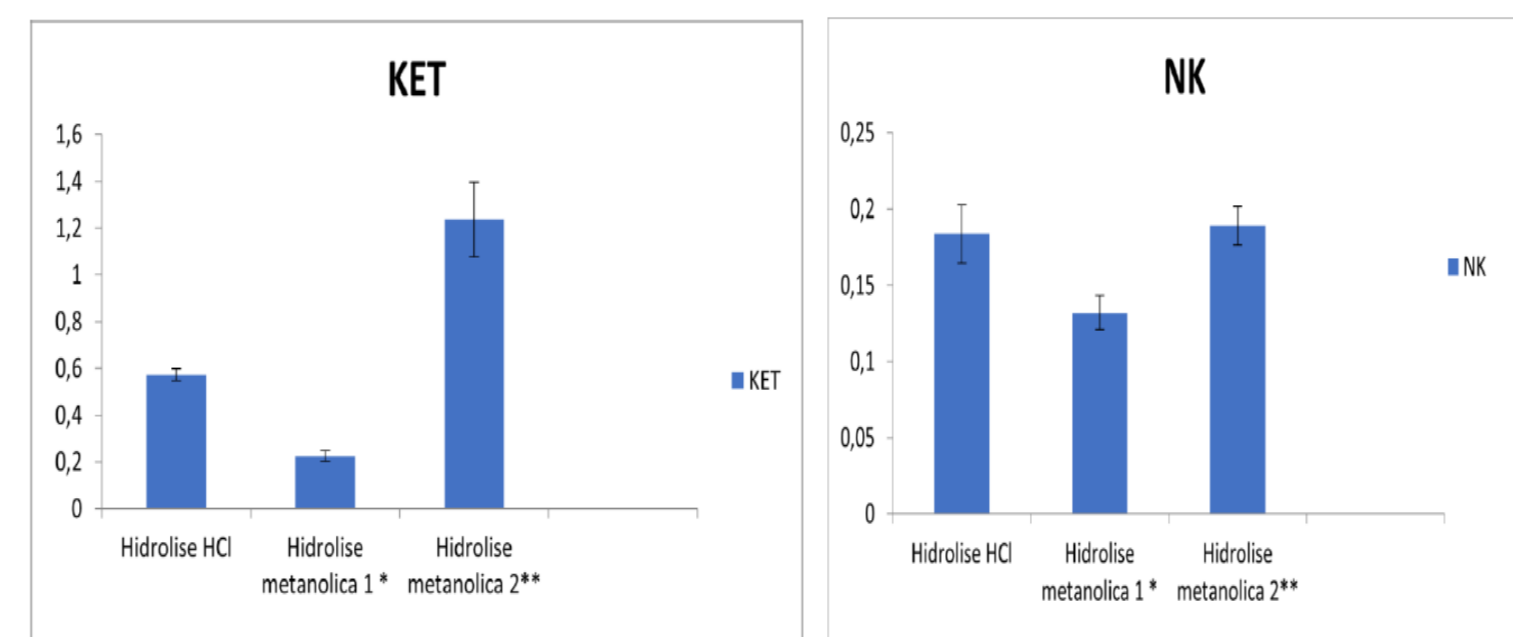
	Nº de aspirações	Nº de lavagens	Nº de eluições
Optimal	20,0	3,0	3,0
D: 0,6971	High	10,0	1,0
Cur	10,0	1,0	3,0
Predict	Low	10,0	1,0

As **condições finais** foram:

- 10 aspirações da amostra
- 1 lavagem da amostra
- 1 eluição da amostra

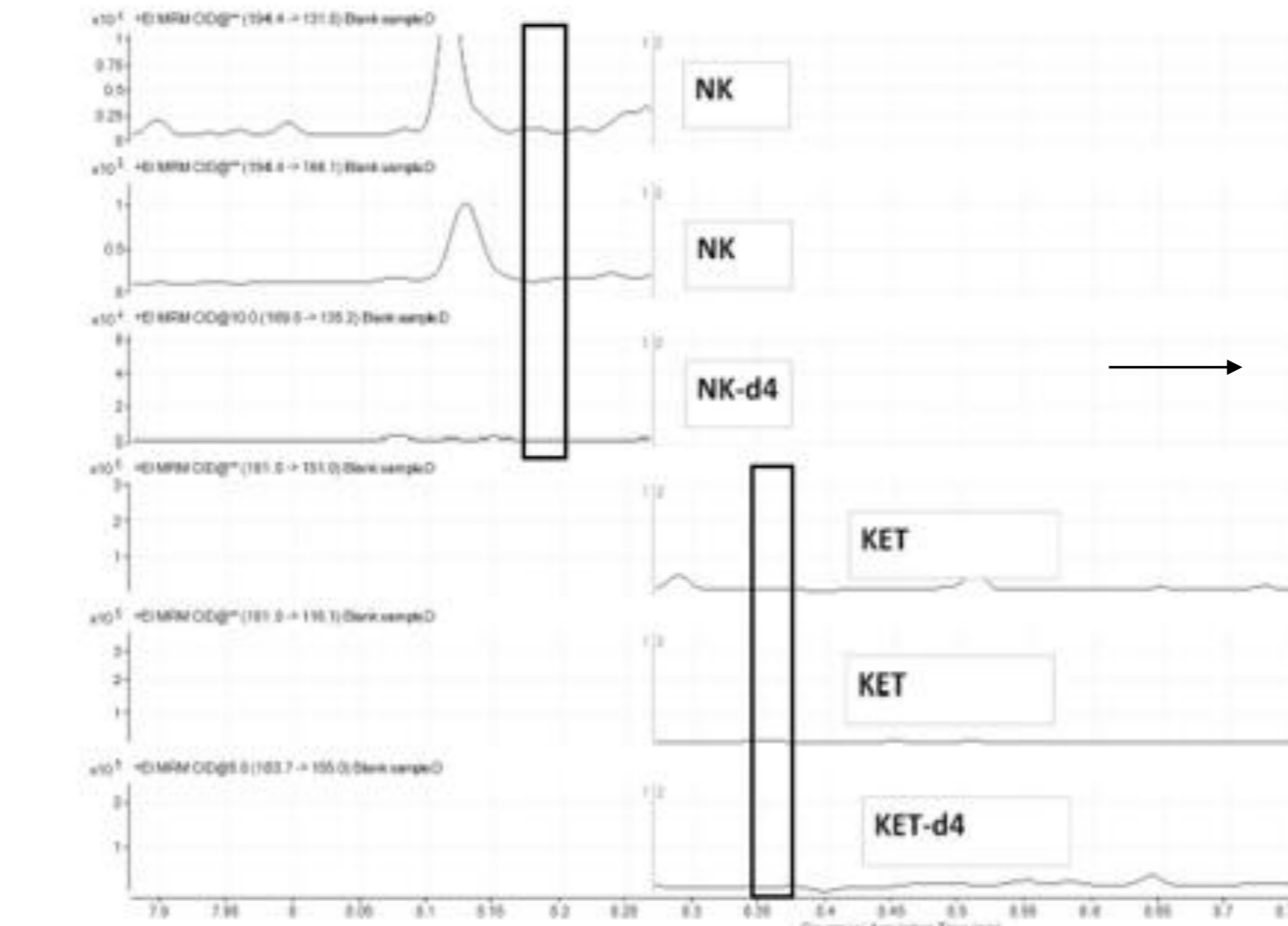


Hidrólise



PARÂMETROS ESTUDADOS

Seletividade:

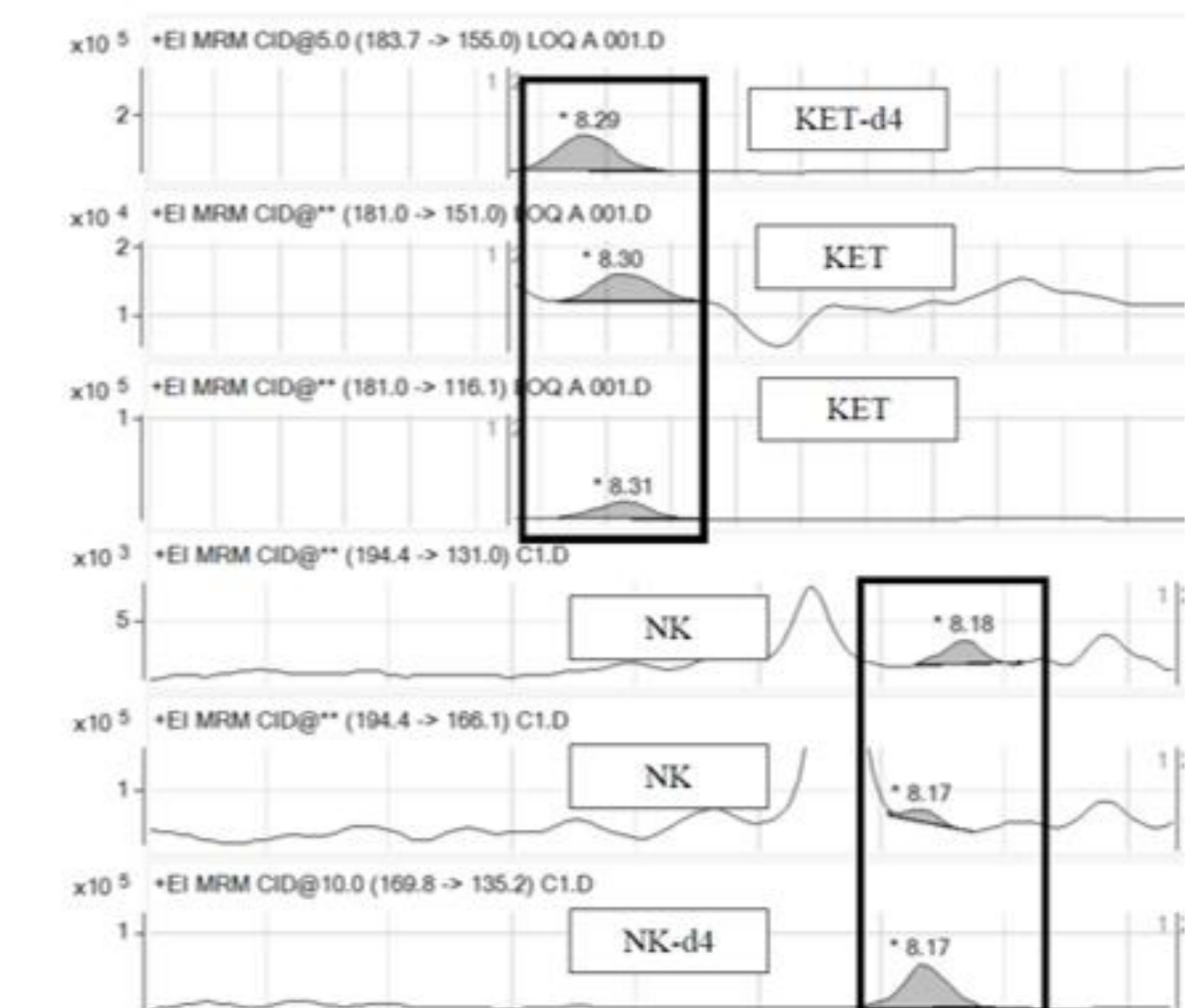


Recuperação

Analito	Concentração (ng/mg)*			
	0,05	0,2	1	10
KET	39,06 ± 5,31	46,98 ± 1,19	51,47 ± 4,14	60,63 ± 3,33
NK	42,8 ± 1,92	38,09 ± 2,55	32,19 ± 4,34	43,32 ± 5,00

*Média ± desvio padrão

Limites de deteção (LOD)



- Crítérios: s/n > 3,3 e CV(%) < 15
- LOD KET – 0,01 ng/mg
 - LOD NK – 0,05 ng/mg

CONCLUSÕES

- (1) Foi desenvolvido um método analítico para a determinação de KET e NK em amostras de cabelo com recurso à MEPS; (2) A GC-MS/MS foi crucial para deteção inequívoca dos analitos, aumentando a sensibilidade e seletividade do método; (3) As recuperações obtidas são adequadas e foram alcançados LODs baixos (alcançando os cut-offs (0,2 ng/mg) propostos pela Society of Hair Testing) (4) Primeiro método analítico que permite a determinação de KET e NK em amostras de cabelo com recurso à MEPS e GC-MS/MS (Journal of Analytical Toxicology, bkac075, <https://doi.org/10.1093/jat/bkac075>).