

# ANÁLISE DE RIVASTIGMINA- INIBIDOR SELETIVO DA COLINESTERASE CEREBRAL, EM AMOSTRAS DE SANGUE. APLICAÇÃO A CASOS FORENSES

Paula Proença<sup>1\*</sup>, Alice Castanheira<sup>1</sup>, Carla Mustra<sup>1</sup>, Fernando Castanheira<sup>1</sup>, João Miguel Franco<sup>1</sup>, Francisco Corte-Real<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Serviço de de Química e Toxicologia Forenses do INMLCF (Coimbra, Portugal)  
<sup>2</sup>Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses (Coimbra, Portugal)  
<sup>3</sup>Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra (Coimbra, Portugal)

## Introdução

A rivastigmina é um inibidor da acetilcolinesterase do tipo carbamato, utilizada no tratamento de demência associada à doença de Alzheimer e à doença de Parkinson. Os inibidores da colinesterase têm como resultado concentrações mais elevadas de acetilcolina, conduzindo a um acréscimo da comunicação entre as células nervosas, o que por sua vez pode, temporariamente, melhorar ou estabilizar os sintomas da demência.

## Material e Métodos

### Preparação da amostra

- 100 µL de sangue / precipitação proteica (ACN)

### Equipamento LC-MS/MS

- Sciex XionLC e Sciex QTRAP (ESI modo positivo)
- Coluna: Acquity UPLC HSS T<sub>3</sub> (2,1x100 mm, 1,8 µm); Temp: 45 °C
- Fase móvel em gradiente (Formato de amónio 0,02 mM e Metanol)
- Fluxo : 0,4 mL/min; Volume de injeção: 10 µL

## Resultados e Discussão

Tabela 1. Tempo de retenção e parâmetros de MRM da rivastigmina.

Substância	Tempo de retenção (min)	Q <sub>1</sub> m/z	Q <sub>3</sub> m/z	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
Rivastigmina 1	4,24	251,2	206,1	20	10	15	12
Rivastigmina 2	4,24	251,2	86,2	56	10	25	16
Clomipramina-d <sub>3</sub>	6,66	318,1	89,0	96	10	23	10

Tabela 2. Resultados de concentrações sanguíneas de rivastigmina nos 8 casos analisados.

Casos	Informação	Valor estimado Triagem	Valor estimado Confirmação	Quantificação
Caso 1	81 anos (Masc)	30 ng/mL	35 ng/mL	33 ng/mL
Caso 2	89 anos (Fem)	94 ng/mL	80 ng/mL	78 ng/mL
Caso 3	79 anos (Masc)	—	6,3 ng/mL	6,4 ng/mL
Caso 4	82 anos (Fem)	11 ng/mL	14 ng/mL	15 ng/mL
Caso 5	77 anos (Fem)	19 ng/mL	15 ng/mL	19 ng/mL
Caso 6	59 anos (Fem)	26 ng/mL	34 ng/mL	42 ng/mL
Caso 7	89 anos (Masc)	7 ng/mL	7 ng/mL	8,1 ng/mL
Caso 8	91 anos (Masc)	28 ng/mL	30 ng/mL	26 ng/mL

Figura 1. Cromatogramas de rivastigmina em MRM (m/z 251,2>206,1; m/z 251,2>86,2).

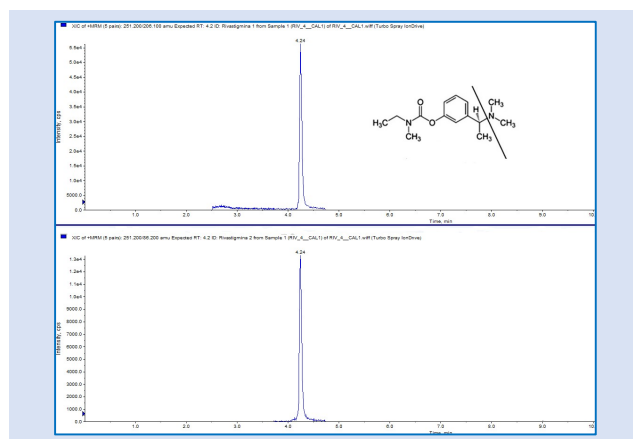


Tabela 3. Resultados da validação de rivastigmina em sangue.

Analito	Controlos (ng/mL)	Repetibilidade CV (%)	Precisão intermédia CV (%)	Exatidão (%)
Rivastigmina	10	5,6	8,2	109,6
	50	4,0	6,8	104,9

- ✓ Curva de calibração com concentrações entre 5 e 100 ng/mL.
- ✓ Repetibilidade: injeção de 5 replicados de 2 controlos (10,0 e a 50,0 ng/mL) com valores de CV <10%.
- ✓ Precisão intermédia: foram estudados 2 controlos (a 10,0 e a 50,0 ng/mL) em triplicado e durante 5 dias, cumprindo as especificações de CV ≤ 20%.
- ✓ Exatidão: os 2 controlos estudados, apresentam resultados não estatisticamente diferentes de 100%, não havendo evidências de erros sistemáticos no método.

### Avaliação de 8 casos positivos para a rivastigmina

- Aplicação de procedimentos de triagem
- Aplicação de procedimentos de confirmação
- Procedimentos de quantificação
- ✓ Não se verificaram diferenças significativas nos resultados obtidos.

## Conclusões

O método validado demonstrou ser seletivo, específico, exato, preciso, robusto e linear na gama de trabalho, cumprindo todos os critérios de aceitação exigidos na determinação deste tipo de substâncias em amostras biológicas analisadas no âmbito da toxicologia forense.