



Comparación de métodos de extracción para análisis metabolómico no dirigido en plasma por UHPLC-ESI-QTOF-MS

Daniela Mennickent, Lia Olivares, Luis Bustamante, Claudia Mardones
*Departamento de Análisis Instrumental, Facultad de Farmacia,
Universidad de Concepción, Chile*
dmennickent@udec.cl

El calafate (*Berberis microphylla*) es una especie vegetal nativa de la familia Berberidaceae ampliamente distribuida en la Patagonia. Su fruto es conocido por ser rico en polifenoles, tales como antocianos, flavonoles y ácidos hidroxycinámicos¹. Dadas las propiedades benéficas de estos compuestos en el marco salud, se administró un extracto del fruto a ratones normopesos y obesos, con el fin de evaluar su efecto sobre el metabolismo orgánico mediante metabolómica no dirigida en plasma. Previo a ello y considerando que esta estrategia se distingue de una clásica dirigida por su enfoque holístico, es necesario optimizar un tratamiento de muestras no selectivo², con el objetivo de maximizar el número de señales a observar en el análisis. Cada una de estas señales (*features*) contiene 3 dimensiones: razón masa/carga, tiempo de retención e intensidad, y es representativa de un compuesto químico.

En este contexto, se evaluaron 3 métodos de extracción: uno convencional con MeOH, el método de Folch (fase acuosa: MeOH/H₂O; fase orgánica: CHCl₃) y una extracción en fase sólida con placa Ostro (fase acuosa: ACN; fase orgánica: CHCl₃/MeOH/TEA). Los extractos obtenidos fueron estudiados por UHPLC-ESI-QTOF-MS utilizando una columna C18 (2.1 x 150 mm, 1.7 μm, Kinetex). El análisis de los extractos acuosos se realizó con las fases móviles (A) H₂O 0.1% HCOOH y (B) ACN 0.1% HCOOH y los modos de ionización ESI (+) y ESI (-). El extracto que presentó un mayor número de señales fue el metanólico, con 193/387 (+/-) *features*. En contraste, los extractos de Folch y con placa Ostro arrojaron 113/183 (+/-) y 93/201 (+/-) *features*, respectivamente. Por otro lado, el estudio de los extractos orgánicos se realizó con las fases móviles (A) ACN:H₂O 60:40, NH₄HCOO 10 mM, 0.1% HCOOH y (B) IPA:ACN 90:10, NH₄HCOO 10 mM, 0.1% HCOOH y el modo de ionización ESI (+). Al igual que en el caso anterior, el extracto que arrojó más señales fue el metanólico, con 396 *features*. En contraste, los extractos de Folch y con placa Ostro presentaron 375 y 372 *features*, respectivamente.

En suma, la extracción convencional con MeOH es la más adecuada para realizar el análisis metabolómico no dirigido en las muestras biológicas de origen murino.

Agradecimientos: FONDEQUIP EQM 170023, FONDECYT 1191276, BECA CONICYT DOCTORADO NACIONAL 21190736.

1. Ruiz, A., Mardones, C., Vergara C., Hermosín-Gutiérrez, I., von Baer, D., Hinrichsen, P., Rodríguez, R., Arribillaga, D., Domínguez, E., *Journal of Chromatography A*, 1281, 38–45 (2013).

2. Dudzik, D., Barbas-Bernardos, C., García, A., Barbas, C., *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 147, 149–173 (2018).