

Análise quiral de cetoconazol por HPLC/DAD empregando um polímero molecularmente impresso adaptado em ponteira (PT-MIP- μ -SPE)

Ricky Cássio Santos da Silva (PG)¹, Valdir Mano (PQ)¹, Arnaldo César Pereira (PQ)¹, Eduardo Costa de Figueiredo (PQ)², Keyller Bastos Borges (PQ)^{1*}

¹ Departamento de Ciências Naturais, Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ), Campus Dom Bosco, Praça Dom Helvécio, 74, Fábricas, 36301-160, São João del-Rei, MG, Brasil. ² Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro, 37130-000, Alfenas, MG, Brasil. *e-mail: keyller@ufsj.edu.br

Palavras-chave: polímero molecularmente impresso, cetoconazol, enantiômeros, HPLC

Introdução

A complexidade dos fluidos biológicos e a baixa concentração dos fármacos nessas matrizes têm levado à investigação e ao desenvolvimento de novos métodos bioanalíticos. Devido à baixa seletividade das fases estacionárias utilizadas no preparo de amostras o foco das pesquisas atuais tem sido o desenvolvimento de novos materiais seletivos para o preparo de amostra, por exemplo, os polímeros molecularmente impressos (MIPs), bem como, métodos analíticos verdes e mais seletivos.¹

O cetoconazol (KTZ) é um antifúngico pertencente à classe dos imidazóis, sendo um inibidor de esterol com larga aplicação clínica. O KTZ é um fármaco quiral administrado clinicamente como uma mistura racêmica (1:1) dos enantiômeros de configuração *cis*. Uma vez que a estereoquímica é um importante fator para os efeitos biológicos deste fármaco, novos métodos enantiosseletivos mais seletivos e de baixo custo devem ser desenvolvidos para análise dos enantiômeros separadamente.

Assim, o objetivo desse estudo foi desenvolver um MIP e um novo método analítico para a análise enantiosseletiva do KTZ em urina por HPLC-DAD.

Resultados e Discussão

As condições otimizadas da síntese do MIP foram: 4 mmol de ácido metacrílico (monômero funcional), 20 mmol de etilenoglicol dimetacrilato (agente de ligação cruzada), 0,3 mmol de 4,4'-azo-bis (4-ciano pentaenóico) - iniciador radicalar e 1 mmol de KTZ (molécula molde). Os reagentes foram solubilizados em 10 mL de acetonitrila: metanol (9:1, v/v) formando uma solução de polimerização que foi sonicada e colocada sob fluxo de nitrogênio por 10 min. A solução permaneceu em estufa a 80°C por 24 h. Após este período, o polímero foi lavado diversas vezes com solução metanol: ácido acético (9: 1, v/v) e o resíduo de lavagem foi analisado por espectroscopia no UV-Vis, até que não fosse observada a presença da molécula molde. De modo análogo, foi sintetizado o polímero não impresso (NIP), apenas sem a presença da molécula molde.

Os polímeros foram caracterizados por termogravimetria (TG), espectroscopia infravermelho (FT-IR) e microscopia eletrônica de

varredura (MEV). Por FT-IR, foi possível observar bandas a 1649 cm^{-1} típica de carbono de hibridização sp^2 , carbonila a 1729 cm^{-1} , O-H a 3563 cm^{-1} , C-O a 1264 cm^{-1} e 1160 cm^{-1} . Essas bandas foram observadas tanto no MIP quanto no NIP. Pela derivada da curva termogravimétrica (DrTG) foi possível observar que a partir de 425 °C iniciou-se a decomposição da matriz polimérica indicando que os materiais foram termicamente estáveis à temperatura de trabalho. Por MEV foi verificado que o método de síntese levou a formação de polímeros porosos na forma de partículas esféricas.

Para a técnica de microextração em fase sólida adaptada ponteira (PT-MIP- μ -SPE) empregando MIPs, o material foi acondicionado em uma ponteira de 1 mL e com o auxílio de uma seringa comercial foi realizado o preparo da amostra. As condições otimizadas foram: 300 μL de água destilada (solvente de lavagem), 300 μL de metanol (solvente de eluição), 30 mg de MIP (material sorvente), 1,0 mL de urina fortificada a 10 $\mu\text{g/mL}$ (volume da amostra), pH de 7,50 e sem adição de sal.

A separação cromatográfica otimizada do KTZ foi realizada em uma coluna Chiralpak[®] IA (100 x 4,6 mm, 3 μm) e fase móvel etanol:água (95: 5, v/v) com vazão de 1 mL/min e detecção em 250 nm.

O método foi linear no intervalo de concentração de 6,25 a 650 ng/mL e com $r \geq 0,99$ para ambos enantiômeros. A precisão e exatidão intra-dia e inter-dias foram menores que 15% em três níveis de concentração analisados. O método proposto foi empregado com sucesso em um estudo de excreção urinária acumulativa após a administração do racemato por um voluntário sadio.

Conclusões

O método bioanalítico apresentou ótima seletividade, aplicabilidade e baixo limite de quantificação podendo ser usado para conduzir de maneira mais eficiente os estudos envolvendo amostras de fluidos biológicos.

Agradecimentos

CAPES, CNPq, FAPEMIG, Rede Mineira de Química e UFSJ

¹ Zhang W., Chen Z. *Talanta*, **2013**, 103, 103-109.