

Avaliação da obtenção do tacrolimo através de extração acelerada com diferentes solventes

Valmir Fabricio Zanzeri (PG), Flávia R. de Aquino (IC), Diogo de Oliveira-Silva (PQ)*

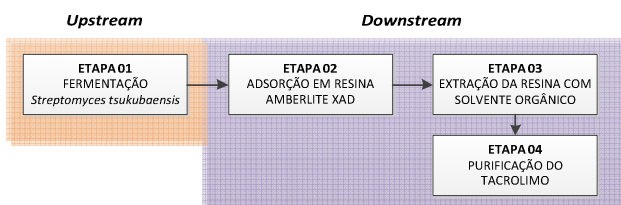
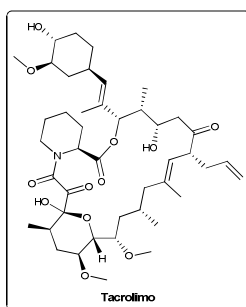
e-mail: vfzanzeri@yahoo.com.br

Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas - Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema

Palavras Chave: tacrolimo, imunossupressor, extração acelerada.

Introdução

O tacrolimo (CAS: 104987-11-3) é um macrolídeo amplamente utilizado em transplantes de fígado e rim como imunossupressor¹⁻³. Várias espécies de bactérias do gênero *Streptomyces* produzem o tacrolimo como metabólito⁴. Este insumo farmacêutico ativo (IFA) é obtido através de um processo biofarmacêutico dividido em duas etapas: *Upstream* (fermentação com o *Streptomyces tsukubaensis*) e *Downstream* (extração e purificação do tacrolimo).



Em virtude do processo fermentativo, o tacrolimo é produzido junto de uma mistura complexa de metabólitos, o que dificulta as atuais etapas de extração e purificação deste IFA, e compromete consideravelmente o tempo e o custo de produção. Neste estudo apresentamos os resultados da otimização da obtenção do tacrolimo por meio da extração acelerada com solventes.

Resultados e Discussão

A composição da porção do caldo fermentado que foi adsorvida na resina (Etapa 2) foi avaliada por CCD e LC-UV-MS (UFLC Nexera X2 acoplado ao LCMS-8050 QqQ, Shimadzu).

Foram realizadas extrações (Etapa 03) com solventes de diferentes polaridades (acetona, acetato de etila, diclorometano (DCM) e hexano), sob agitação em vórtex e shaker. Foi possível observar o perfil das impurezas, polares e apolares, com cada solvente testado.

Observou-se, portanto, que o hexano extrai majoritariamente as impurezas apolares e que a

acetona, acetato de etila e DCM têm alto potencial de extração do tacrolimo, apesar de extrair uma ampla variedade de impurezas.

Esses resultados foram, então, aplicados em experimentos de extração acelerada, em que se utilizou um extrator ASE 350 (Dionex) à temperatura e pressão controladas: 40°C e 1500 psi, respectivamente. Foram realizados estudos com diferentes ciclos isocráticos e sequenciais de solventes, com a presença e ausência de sílica nas células de extração.

Tabela 1. Ciclos isocráticos e sequenciais no ASE

Extração	Solvente	Composição CÉLULA	Condições
1	Hexano	Resina	Ciclo de 15 min (5 min de aquecimento +10 min de tempo estático) a 40°C.
2	DCM	Resina	
3	Acetona	Resina	33 ciclos consecutivos
4	Hexano/DCM/Acetona	Resina + Sílica	

A extração combinada com cromatografia (extração 4) mostrou que o DCM apresenta alta seletividade entre o tacrolimo e as impurezas, retirando uma grande quantidade das impurezas apolares sem a remoção de tacrolimo da sílica. Entretanto, ainda notou-se a presença dessas impurezas que foram removidas, na extração seguinte, pela acetona.

Conclusões

Os resultados obtidos indicam que a extração combinada com cromatografia é um método adequado para o aumento da eficiência do processo. Pretende-se, portanto, aliar a esses resultados uma metodologia mais eficiente no preparo da amostra e nos parâmetros de extração.

Agradecimentos

Shimadzu do Brasil, LABIORG (Prof. Dr. João H. G. Lago) e Libbs.

¹ Ansari, M. J.; Sayegh, M. H., *Saudi Journal Kidney Diseases and Transplantation* **2006**, 17 (2).

² Diarra, D. A.; Riegersperger, M.; Saemann, M. D.; Sunder-Plassmann, G., *Kidney International* **2010**, 77, S8-S11.

³ Ensor, C. R.; Trofe-Clark, J.; Gabardi, S.; McDevitt-Potter, L. M.; Shullo, M. A., *Pharmacotherapy* **2011**, 31 (11), 1111-1129.

⁴ Xia, M.; Huang, D.; Li, S.; Wen, J.; Jia, X.; Chen, Y., *BiotechnolBioeng* **2013**, 110 (10), 2717-30.