

Análise estereosseletiva da tioridazina e de seus metabólitos por HPLC para aplicação em estudo de metabolismo *in vitro*.

Keyller Bastos Borges¹ (PG)*, Warley de Sousa Borges¹ (PG), Mônica Tallarico Pupo¹ (PQ), Pierina Sueli Bonato¹ (PQ) - keyller@fcrp.com.br

¹Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo

Palavras Chave: HPLC, tioridazina, fungos.

Introdução

Os microrganismos, principalmente fungos, podem biotransformar estereosseletivamente fármacos e reproduzir as vias de metabolização *in vivo*. A cromatografia líquida de alta eficiência com fases estacionárias quirais pode ser usada para a resolução das espécies quirais formadas.

A tioridazina (THD), fármaco quiral, possui atividade antipsicótica e tem como principais metabólitos a tioridazina-2-sulfóxido (THD-2-SO) e tioridazina-5-sulfóxido (THD-5-SO), metabólitos com 2 centros quirais. Portanto, este trabalho tem por finalidade o desenvolvimento de um método de análise estereosseletiva da THD-2-SO e THD-5-SO em meio de cultura para avaliação do potencial de biotransformação da THD por alguns fungos.

Resultados e Discussão

O método de preparação das amostras foi baseado na extração líquido-líquido, conforme **Figura 1**.

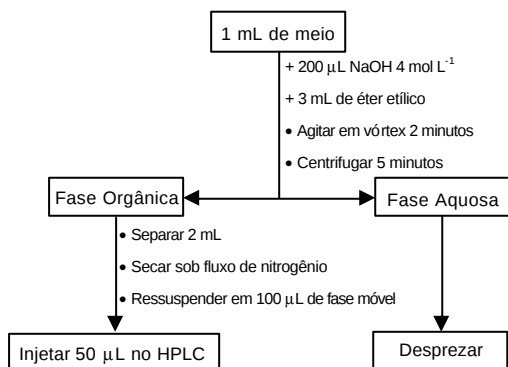


Figura 1. Fluxograma de extração líquido-líquido empregado na preparação das amostras de meios de cultura de fungos adicionados de tioridazina.

A análise foi realizada empregando HPLC e as melhores condições para resolução simultânea dos isômeros da THD-2-SO e THD-5-SO foram obtidas com coluna quiral CHIRALPAK® AS, fase móvel hexano : etanol : metanol (92:6:2) + 0,5% de dietilamina, vazão de 1,4 mL min⁻¹ e detecção em 262 nm, conforme **Figura 2**. Depois de otimizadas as condições, o método foi validado (somente para os isômeros: *Fast Eluted* - FE da THD-2-SO e *Slow Eluted* - SE da THD-5-SO) e as características de

desempenho como linearidade (25 a 5000 ng mL⁻¹, $r \geq 0,999$) recuperação (100% para todos os isômeros com CV < 15%), limite de quantificação (25 ng mL⁻¹ com CV e erro inferior a 15 %), exatidão e precisão intra (n = 5) e interensaios (n = 3) (com erro e CV, respectivamente, inferior a 15%) foram avaliadas.

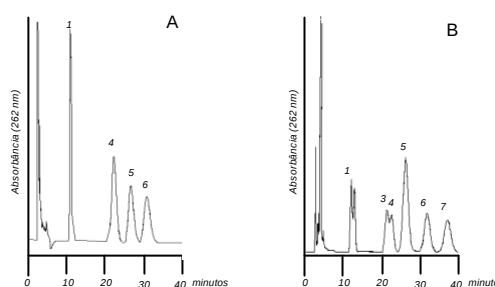


Figura 2. Separação cromatográfica dos diastereoisômeros da THD-2-SO e da THD-5-SO. (A) Solução-padrão (THD-2-SO – FE – picos 1 e 4) (THD-5-SO – SE – picos 5 e 6) e (B) Produtos formados no metabolismo da THD pelo fungo *Penicillium waksmanii*.

O método desenvolvido foi empregado para avaliar o metabolismo *in vitro* da THD pelos fungos *Penicillium waksmanii* (**Figura 2B**), *Glomerella cingulata* e *Phomopsis* sp.

Conclusões

Com base nos parâmetros analíticos avaliados, o método desenvolvido mostrou ser eficaz para análise da THD-2-SO e da THD-5-SO em meio de cultura. Os 3 fungos avaliados, *Penicillium waksmanii*, *Glomerella cingulata* e *Phomopsis* sp., biotransformaram o fármaco de forma estereosseletiva.

Agradecimentos

CAPES, CNPq e FAPESP.

¹ Eap, C. B.; Koeb, L.; Powell, K.; Baumann, P. *J. Chromatogr. B*, **1995**, 669, 271-9.

² De Gaitani, C. M.; Martinez, A. S.; Bonato, P. S. *Electrophoresis*, **2003**, 24, 2723-30.

³ De Gaitani, C. M.; Martinez, A. S.; Bonato, P. S. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2004**, 36, 601-7.