

Determinação simultânea de isoniazida, suas impurezas de síntese e produtos de degradação por eletroforese capilar de zona

Adriana F. Faria^{1*} (PG), Raoni S.B. Gonçalves² (PG), Marcus V.N. de Souza² (PQ), Marccone A.L. de Oliveira¹ (PQ) - adrianaferreirafaria@yahoo.com.br

¹Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora;

²Instituto de Tecnologia em Fármacos-Far Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz.

Palavras Chave: Isoniazida, impurezas, produtos de degradação, eletroforese capilar de zona.

Introdução

A isoniazida (ISO), tuberculostático de elevada potência e seletividade contra a *Mycobacterium tuberculosis*, é utilizada no tratamento de primeira linha da tuberculose (TB). A síntese industrial pode ser realizada utilizando como material de partida: ácido isonicotínico (AIN), que forma como intermediário isonicotinato de etila (INE), ou 4-cianopiridina (CPD). Estudo, realizado sob diferentes condições de stress, verificou que os principais produtos de degradação são: AIN e isonicotinamida (IND).¹

Devido à necessidade do monitoramento da qualidade deste fármaco, neste trabalho foi otimizada metodologia alternativa por eletroforese capilar de zona (CZE) para a análise simultânea de ISO, AIN, INE, IND e CPD sob detecção UV em 270 nm.¹

Resultados e Discussão

A otimização do método foi realizada mediante planejamento Box-Behnken 3³ (Tabela 1). As respostas monitoradas foram as resoluções dos pares críticos: R_{INE, IND} e R_{AIN, pico do sistema}.

Tabela 1- Planejamento Box-Behnken 3³

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	-	+	-	+	-	+	-	+	0	0	0	0	0
2	-	-	+	+	0	0	0	0	-	+	-	+	0
3	0	0	0	0	-	-	+	+	-	-	+	+	0

1- Brij 35 (mmol L⁻¹): (-) 0; (0) 1,00; (+) 2,00;

2- Cu²⁺ (mmol L⁻¹): (-) 0; (0) 6,25; (+) 12,5;

3- Voltagem (kV): (-) 20,0; (0) 22,0; (+) 24,0;

O Brij 35 foi selecionado para investigar o comportamento da ISO na presença de seus artefatos, uma vez que é suscetível a sofrer hidrólise; Cu²⁺ para avaliar a formação de adutos catiônicos; e a voltagem selecionar simultaneamente resolução adequada (≥ 1,50) em curto tempo de análise. Pelos resultados, concluiu-se que a adição de Cu²⁺ é indispensável para a separação completa dos analitos; os fatores Brij 35 e voltagem afetam a resolução dos pares críticos. Resolução superior a 1,50, para ambos os pares críticos, foi obtida nos experimentos 4 e 10. Para R_{INE, IND} e R_{AIN, pico do sistema}

33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

o ótimo foi selecionado mediante metodologia de superfícies de resposta (equação 1).

$$\hat{y} = \hat{\beta}_0 + \sum_{i=1}^k \hat{\beta}_i x_i + \sum_{i=1}^k \hat{\beta}_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \hat{\beta}_{ij} x_i x_j + r_i \quad (1)$$

A avaliação do ajuste dos modelos (Anova) indicou que não há evidência de falta de ajuste no intervalo de confiança de 95%, pois os *p*-valores obtidos para R_{EIN, IND} (0,059) e R_{CPD, pico do sistema} (0,188) foram maiores que 0,05. A fim de decidir qual a melhor condição experimental, foi realizado teste t não pareado (n=5). Verificou-se a ocorrência de diferença significativa entre o experimento 4 e 10 para um α= 0,05 (*p* < 0,05). A seleção do ótimo foi baseada na condição que forneceu resolução média superior a 1,55 para dois pares críticos simultaneamente. Assim, o eletrólito consistindo de 50,0 mmol L⁻¹ de HAc/NaAc e 12,5 mmol L⁻¹ de CuSO₄, padrões diluídos em 1,00 mmol L⁻¹ de Brij 35 e 12,5 mmol L⁻¹ de CuSO₄ e voltagem de + 20,0 kV foi selecionado como ótimo (experimento 10). O método aplicado a análise do fármaco, resultou em 97,3 ± 1,4 mg de ISO, 2,65% inferior ao rotulado, e 0,738 ± 0,028 mg INA, correspondendo a 0,758% da concentração de ISO.

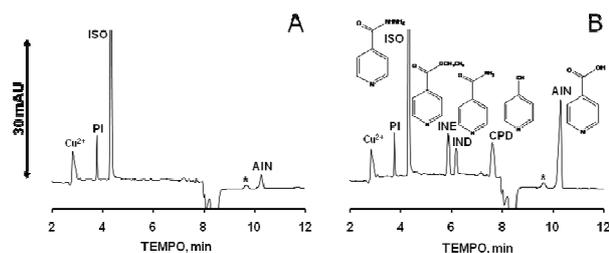


Figura 1- Eletroferograma: (A) amostra e (B) amostra com adição de padrão na condição otimizada.

Conclusões

O método pode ser útil no monitoramento do controle de qualidade da formulação farmacêutica (screening), oferecendo como vantagens a simplicidade, baixo custo e curto tempo de análise em comparação com as metodologias por LC-MS.

Agradecimentos

CAPES, FAPEMIG, CNPQ, UFJF, Farmanguinhos

*Faria, A.F.; Gonçalves, R.S.B.; De Souza, M.V.N.; De Oliveira, M.A.L.; submetido ao *J.Chromatogr. A* em 29/01/09.