

Validação de um método analítico para aplicação em estudos de biotransformação estereosseletiva do albendazol por fungos.

Viviane C. Hilário^{1*} (IC), Keyller B. Borges² (PQ), Pierina S. Bonato² (PQ), Anderson R. M. de Oliveira¹ (PQ)

¹ Departamento de Química, FFCLRP-USP, 14040-901, Ribeirão Preto - SP, Brasil.

² Departamento de Física e Química, FCFRP-USP, 14040-903, Ribeirão Preto - SP, Brasil.

*vivi_hilario@aluno.ffclrp.usp.br

Palavras Chave: validação, biotransformação, albendazol, fungos, HPLC, estereosseletividade.

Introdução

Biotransformação pode ser definida como o uso de sistemas biológicos para a realização de reações químicas em compostos que não são seus substratos naturais. Fungos podem ser utilizados em processos de biotransformações; a utilização destes microorganismos pode ser útil, pois são simples e eficientes. Além disso, podem realizar reações estereosseletivas¹ com moléculas quirais. O objetivo desse trabalho é validar um método enantiosseletivo empregando a CLAE como técnica analítica para posterior emprego em estudos de biotransformação do albendazol (ABZ) empregando fungos como “agentes catalisadores” e avaliação da formação do metabólito quiral e ativo, albendazol sulfóxido (ABZSO).

Resultados e Discussão

A análise do ABZ e seus metabólitos (ABZSO e albendazol sulfona, ABZSO₂) foi realizada por HPLC no modo polar-orgânico, empregando a coluna quiral Chiralpak AS[®] (25 cm), com fase móvel composta por acetonitrila:etanol (97 : 03 v/v + 0,2% de ácido acético e 0,2% de trietilamina). As amostras foram preparadas empregando a microextração em fase líquida usando uma fibra de polipropileno oca de 15 cm, n-octanol como solvente extrator, solução de HCl 0,10 mol.L⁻¹ como fase aceptora e tampão fosfato 0,50 mol.L⁻¹ (pH=7) como fase doadora. O tempo de extração foi estabelecido em 50 min. e a velocidade de agitação em 1500 rpm. Os parâmetros de validação avaliados foram: limite de quantificação, seletividade, linearidade, precisão e exatidão intra-ensaio e interensaio, e estabilidade. A seguir seguem os resultados dos principais parâmetros avaliados:

Tabela 1 - Linearidade (n=3)

Analitos	Intervalo (ng mL ⁻¹)	Equação linear	r
ABZ	200-10000	y = 131,21x - 1779,34	0,9962
(-)-ABZSO	25-5000	y = 967,25x + 5339,62	0,9975
(+)-ABZSO	25-5000	y = 962,51x + 4963,35	0,9974
ABZSO ₂	50-1000	y = 683,18x - 16575,75	0,9934

r, coeficiente de correlação

Tabela 2 - Precisão e exatidão interensaio* (n=5)

Analitos	Conc.		Exatidão		Precisão DPR (%)
	Nominais (ng mL ⁻¹)	Obtidas (ng mL ⁻¹)	ER (%)		
ABZ	500/1000	483,3/1055,1	-3,3/5,5		7,5/5,8
	5000	4869,8	-2,6		7,8
(-)-ABZSO	100/500	97,8/506,1	-2,2/1,2		5,1/5,3
	2500	2572,8	2,9		7,1
(+) -ABZSO	100/500	98,3/504,7	-1,7/0,9		5,2/5,3
	2500	2569,9	2,8		7,1
ABZSO ₂	100/250	93,6/251,2	-6,4/0,5		2,6/4,1
	500	533,8	6,7		4,8

ER, erro relativo; DPR, desvio padrão relativo; *3 dias consecutivos

Tabela 3 - Precisão e exatidão intra-ensaio (n=5)

Analitos	Conc.		Exatidão		Precisão DPR (%)
	Nominais (ng mL ⁻¹)	Obtidas (ng mL ⁻¹)	ER (%)		
ABZ	500/1000	452,0/1100,9	-9,6/10,1		2,5/4,4
	5000	4902,6	-1,9		7,2
(-)-ABZSO	100/500	96,6/518,2	-3,4/3,6		7,1/4,4
	2500	2555,1	2,2		8,6
(+) -ABZSO	100/500	97,2/515,4	-2,8/3,1		7,4/4,6
	2500	2546,6	1,9		8,6
ABZSO ₂	100/250	94,3/254,5	-5,7/1,8		1,8/2,4
	500	542,3	8,5		4,5

ER, erro relativo; DPR, desvio padrão relativo

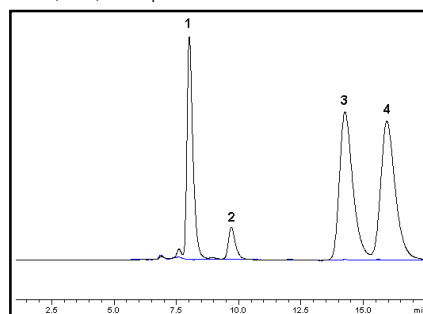


Figura 1 - Cromatograma após extração por LPME e análise em HPLC nas condições otimizadas (linha em preto), a linha em azul corresponde ao branco do meio de cultura. (1) ABZsulfona, (2) ABZ, (3) (-)-ABZsulfóxido, (4) (+)-ABZsulfóxido

Conclusões

A metodologia proposta para a análise do ABZ e seus metabólitos foi validada e os parâmetros avaliados estão de acordo com os critérios definidos pela ANVISA.

Agradecimentos

À FAPESP e ao CNPq

¹ Borges, K.B.; Borges, W. S.; Pupo, M. T.; Bonato, P. S. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2007, 77, 669-674.