

# Seleção de Sistema Solvente Bifásico para Separação Quiral de Praziquantel por Cromatografia Contracorrente de Alta Eficiência



Sabrina L. Büttenbender<sup>1</sup>, Elisa de Saldanha Simon<sup>2</sup>, Nadia Maria Volpato<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Farmácia, UFRGS

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, UFRGS



## INTRODUÇÃO

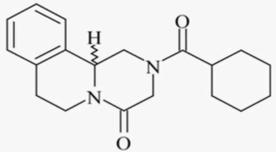
► **Cromatografia contracorrente de alta eficiência (HPCCC)**<sup>[1]</sup>:

**Sistema Solvente Bifásico (SSB)**  
duas fases líquidas imiscíveis

**Fase Estacionária (FE)**  
retida no equipamento

**Fase Móvel (FM)**  
percorre a coluna espiral

► Separação enantiomérica → adição de seletor quiral ao SSB



R(-)-praziquantel: ação antihelmíntica

S(+)-praziquantel: efeitos adversos e sabor amargo

Figura 1. Estrutura química do praziquantel (mistura racêmica)<sup>[2]</sup>.

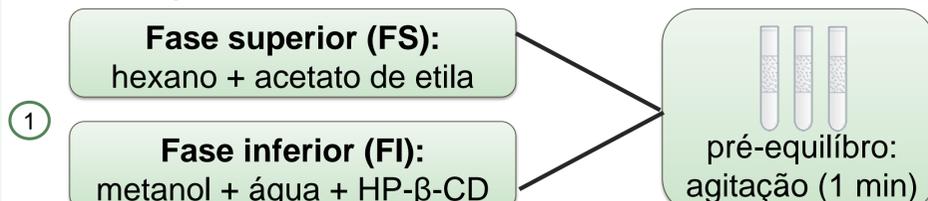
**OBJETIVO:** Selecionar o SSB adequado para utilização em HPCCC na separação enantiomérica de praziquantel (PZQ), com base no coeficiente de partição (*K*) do fármaco em diferentes proporções dos solventes usuais na técnica, com e sem adição de hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HP-β-CD) como seletor quiral.

## METODOLOGIA

**Seleção da família de solventes:** análise de PZQ em modo gradiente linear por CLAE:

- Cromatógrafo Shimadzu, modelo CBM-20A
- Coluna → C18 (4,6 x 250 mm)
- Fase móvel → água:acetonitrila (0 a 100% de ACN)
- Vazão de fase móvel → 1 mL/min
- Tempo de corrida → 60 min
- Detecção → 210 nm

**Determinação de *K*:**



- Adição de PZQ → agitação por 5 min → repouso
- Após 60 e 90 min: agitação por 5 min
- Após 120 min: coleta de FI → doseamento por CLAE (método farmacopeico) → quantidade de PZQ na FI ( $m_i$ )
- Quantidade de fármaco na FS ( $m_s$ ): calculada por diferença em relação à massa total ( $m_t$ )

$$m_s = m_t - m_i$$

$$K = \frac{m_i}{m_s}$$

**HPCCC:**

**Seleção do modo de operação**

(Modo Normal)

**Preenchimento da coluna analítica com Fase Estacionária**

(volume da coluna 22 mL; vazão 5 mL/min)

**Equilíbrio com bombeamento de Fase Móvel**

(vazão 1 mL/min; rotação 1600 rpm; temperatura 30 °C)

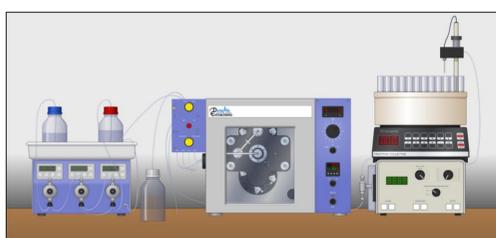


Figura 2. Equipamento de HPCCC<sup>[3]</sup>.

**Detecção de PZQ:** UV acoplado ao HPCCC (254 e 263 nm) ou CLAE-UV (método farmacopeico) após secagem e diluição das frações coletadas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Seleção da família de solventes:**

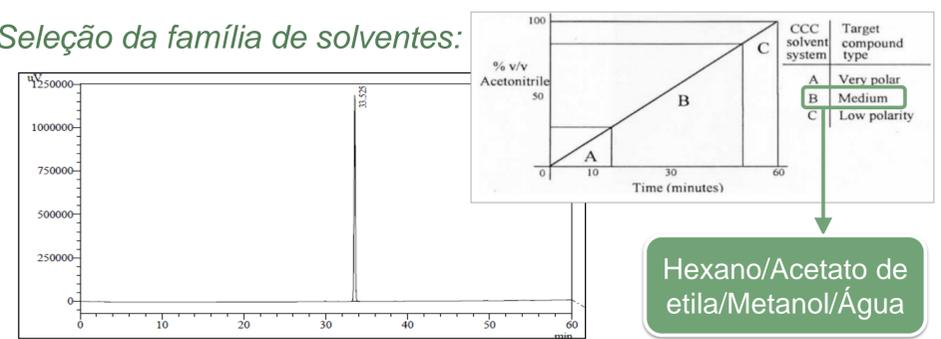


Figura 3. Cromatograma de PZQ no modo gradiente linear a 210 nm (CLAE).

► O tempo de retenção do PZQ equivale a aproximadamente 55% de ACN, indicando a média polaridade da molécula, o que direciona para o uso de determinadas famílias de solventes<sup>[4]</sup>.

**Determinação de *K*:**

Tabela 1. Resultados de coeficiente de partição do PZQ em diferentes SSB.

Concentração de HP-β-CD (mM)	Proporção de hexano/acetato de etila/metanol/água		
	1:1:1:1	1,2:0,8:1,2:0,8	1,5:0,5:1,5:0,5
0	0,69	0,75	0,62
10	0,63	0,75	0,97
30	0,40	0,57	0,50

► Todos os valores de *K* resultantes das diferentes proporções testadas encontram-se dentro da faixa recomendada de 0,4 a 2,5<sup>[5]</sup> para uso promissor em HPCCC.

**HPCCC e Detecção do PZQ:**

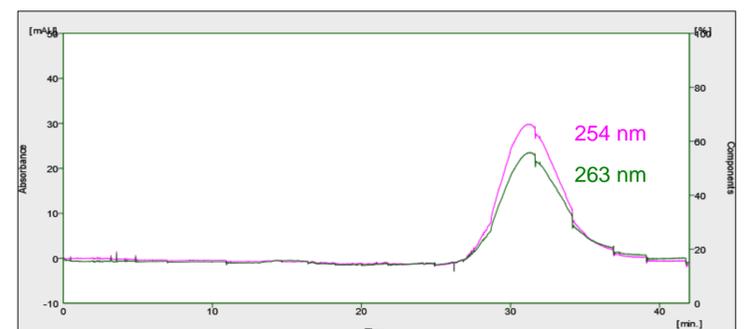


Figura 4: Cromatograma de PZQ com SSB na proporção 1:1:1:1 sem HP-β-CD (HPCCC).

Tabela 2: Tempos de Retenção ( $T_R$ ), Retenção de Fase Estacionária ( $R_{FE}$ ) e Tempo de Separação entre as Fases ( $T_S$ ) com e sem HP-β-CD.

Proporção	$T_R$ (min)	$R_{FE}$ (%)	$T_S$ (s)
1:1:1:1	32	59	< 30
1,2:0,8:1,2:0,8	82	59	< 30
1,5:0,5:1,5:0,5	> 120	60	< 30

► As proporções avaliadas forneceram diferentes tempos de retenção para o PZQ, sendo que os valores de retenção da FE na coluna e tempo de separação entre as fases foram satisfatórios, acima de 50% e inferiores a 30 segundos, respectivamente. Os parâmetros testados não sofreram alteração com a adição do seletor quiral aos sistemas solventes bifásicos.

## CONCLUSÃO

A proporção 1:1:1:1 foi selecionada para novos ensaios com maiores concentrações de HP-β-CD e outros seletores quirais, por resultar em valores de *K*,  $R_{FE}$  e  $T_S$  adequados, além de apresentar menor tempo de retenção para o PZQ em relação às demais proporções.

## REFERÊNCIAS

- BERTHOD, A. *et al.* **J. Chromatogr. A.** 2009.
- MEYER, T. *et al.* **PLoS Negl. Trop. Dis.** 2009.
- <http://www.dynamicextractions.com>
- LEITÃO, G. G. **Rev. Fitos.** 2005.
- FRIESEN, J. B. **J. Liq. Chromatogr. R. T.** 2005.

**Agradecimentos:** Farmanguinhos, Ashand, CNPq e PROBIC-FAPERGS.