

OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA QUALITATIVA E QUANTITATIVA PARA IDENTIFICAÇÃO DE FÁRMACOS ANTI-HELMINTICOS

BUENO, F.*; BERGOLD, A. M.

Departamento de Produção de Matéria-Prima, Faculdade de Farmácia /UFRGS;

* Bolsista Iniciação Científica - CNPq/ Propesp

RESUMO: Fármacos benzimidazólicos nas concentrações de 0,375-1,500 µg, foram caracterizados por cromatografia em camada delgada, em dois diferentes sistemas e detectados por luz ultravioleta e vapores de iodo. Este método mostrou-se reprodutível e rápido para identificar e distinguir os seguintes fármacos: albendazol, mebendazol, cambendazol, sulfóxido de albendazol, oxibendazol e tiabendazol.

UNITERMOS: Fármacos benzimidazólicos, cromatografia em camada delgada, identificação

ABSTRACT: *QUALITATIVE AND QUANTITATIVE METHOD OPTIMIZATION FOR THE IDENTIFICATION OF ANTHELMINTIC DRUGS.* Benzimidazolic Drugs in concentrations from 0.375-1.500 µg, were characterized by Thin Layer Chromatography in two different systems and detected by Ultraviolet Light and Iodine. This method is reproducible and fast to identify and discern the following drugs: Albendazole, Mebendazole, Cambendazole, Albendazole Sulfoxid, Oxibendazole and Thiabendazole.

KEYWORDS: Benzimidazolic drugs, Thin Layer Chromatography, Identification

INTRODUÇÃO

Uma das doenças mais comuns nas regiões tropical e sub-tropical é a parasitose intestinal, causada por infestação de helmintos. As helmintíases trazem efeitos nocivos ao desenvolvimento físico e mental, principalmente das crianças. São um problema social, relacionado com higiene e saúde pública.

Fármacos derivados do grupo dos benzimidazóis tais como o albendazol, mebendazol, cambendazol, sulfóxido de albendazol, oxibendazol e tiabendazol são os mais utilizados para controle e tratamento das helmintíases intestinais, devido ao seu amplo espectro de ação e esquema posológico pouco complexo. Por pertencerem a um mesmo grupo químico, suas características estruturais são semelhantes o que dificulta a identificação por reações químicas. Estes fármacos foram caracterizados através de cromatografia, detecção por luz ultravioleta e vapores de iodo, desenvolvendo-se assim um método prático, rápido, sensível e econômico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram pesadas exatamente cerca de 25 mg das amostras de albendazol, mebendazol, cambendazol, sulfóxido de albendazol, oxibendazol e tiabendazol, que foram quantitativamente transferidas para balões volumétricos de 50 ml. Na dissolução das amostras utilizou-se 10 ml de ácido clorídrico 2 % em metanol (v/v) e agitou-se. A seguir, adicionou-

se 15 ml de água destilada e completou-se o volume, levando os balões volumétricos à marca de 50 ml com solução de ácido clorídrico 0,1 M e agitou-se. Estas soluções possuíam a concentração de 500 µg/ml.

Em folhas cromatográficas prontas de alumínio GF 254 (Merck) ativadas, foram aplicadas as amostras, com auxílio de capilares, nas concentrações de 0,375 - 1,500 µg.

Fases móveis utilizadas:

- (CM): clorofórmio: metanol (90:10 v/v)
- (CMH): clorofórmio: metanol: hidróxido de amônio (90:10:1 v/v)

As cromatofolhas foram devidamente colocadas em cuba cromatográfica saturada com o eluente, preparado anteriormente.

Os cromatogramas desenvolveram-se até ± 15 cm acima do ponto de aplicação, quando foram retirados da cuba e expostos ao ar para secagem.

Com as placas já secas, procedeu-se à visualização das manchas com lâmpada UV GL 58 (UVP inc.) no comprimento de onda de 254 nm e detecção com vapores de iodo.

RESULTADOS

A tabela 1 sumariza os resultados cromatográficos das amostras de albendazol e seus derivados nas diversas condições testadas.

DISCUSSÃO

Devido à semelhança estrutural entre os fármacos estudados, estes apresentam, em sua maioria, comportamento muito parecido quando

detectados com luz UV ou vapores de iodo. Neste caso, podem ser diferenciados pelos valores de Rf. No sistema CM o cambendazol e o sulfóxido de albendazol e ou tiabendazol apresentam Rf parecidos, assim como o tiabendazol e o mebendazol, no sistema CMH, apesar disto, estes compostos apresentam colorações distintas na detecção com luz UV a 254 nm. Nota-se que em quase todos os fármacos ocorre extinção de fluorescência, pois tratam-se de compostos com estrutura aromática. A luminescência é característica de muitos derivados benzimidazólicos, sendo a fluorescência causada por transições $\pi - \pi^*$ e a fosforescência por transições $n - \pi^*$. O mebendazol apresentou, à temperatura ambiente e em solventes orgânicos, apenas fosforescência devido à carbonila benzofenônica, sendo a fluorescência do anel benzimidazólico mascarada pela carbonila. Foi também constatado, neste trabalho, que o iodo, um reagente geral utilizado para detectar compostos orgânicos, se une fisicamente à substância originando coloração mais intensa quando há maior insaturação. O iodo é facilmente eliminado por aquecimento.

As amostras aplicadas na concentração de 0,375 μg são detectadas claramente por luz UV 254nm, mas não por vapores de iodo. Portanto as concentrações das amostras foram gradualmente aumentadas até serem detectadas pelos vapores de iodo, o que ocorreu na concentração de 1,5 μg . Assim, a sensibilidade da detecção com luz UV é cerca de quatro vezes maior que a sensibilidade da detecção com vapores de iodo.

Como no sistema CMH a quantidade de hidróxido de amônia é muito pequena e o reagente muito volátil, variações mínimas na concentração do mesmo alteram substancialmente os Rf, enquanto o sistema CM proporciona resultados mais reprodutíveis.

CONCLUSÕES:

A cromatografia em camada delgada detectada com vapores de iodo ou luz UV é viável para identificar e distinguir os fármacos benzimidazólicos estudados.

Vapores de iodo como detectares mostraram-se eficientes e dentro das expectativas em que se desenvolveu este trabalho, constituindo um método prático, rápido, seguro e econômico para este tipo de identificação.

Devido a sua maior estabilidade, a fase móvel clorofórmio/metanol (90:10 v/v) foi a preferida e recomendada.

BIBLIOGRAFIA

- BAEYENS, W. R. G.; ABDEL FATTAH, F.; DE MOERLOOSE, P. Molecular luminescence of some benzoylbenzimidazoles and related benzimidazoles. *Anal. Lett.*, v. 18, n. 1317, p. 2143-2154, 1985.
- BAYENS, W.; DE MOERLOOSE, P. Fluorescence properties of domperidone and its determination in pharmaceutical preparations. *Anal. Chim. Acta*, v. 110, p. 261-270, 1979.
- BERGOLD, A. M. *Análise Químico-Farmacêutica do Albendazol*. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP, 1992. 220 p. [Tese de doutorado]
- CLARKE, E. C. G. *Isolation and Identification of Drugs*. v. 2, London: Pharmaceutical, 1975. p. 1056.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. *Introdução a Métodos Cromatográficos*. Campinas: Unicamp, 1990. p. 11-27, 45-57, 141-238.
- GRIMMET, M. R. Imidazoles and their benzo derivatives: (I) structure, (II) reactivity. In: KATRIZY, A. R.; REES, C. W. (ed.), *Comprehensive heterocyclic chemistry*. v. 5, Oxford: Pergamon, 1984. p. 345-456.
- GYURIK, R. J.; CHOW, A. W.; ZABER, B.; BRUNNER, E. L.; MILLER, J. A.; VILLANI, A. J.; PETKA, L. A.; PARISH, R. C. Metabolism of albendazole in cattle, sheep, rats and mice. *Drug Metab. Dispos.* Baltimore, v. 9, p. 503-508, 1981.
- ISIKDAG, I.; UÇUCU, U.; BADAQBAS, K. Qualitative and quantitative analysis of the active ingredients of some turkish commercial veterinary anthelmintic drugs. *Doga: Turk. Vet. Hayvancilik Derg.*, Ankara, v. 13, p. 311-318, 1989.
- KUZ'MIN, A. A. Determination of benzimidazole carbamate derivatives in products of animal origin. *Veterinariya*, v. 9, p. 62-64, 1985. Apud: *Chem. Abstr.*, v. 103, abstr. n. 213505a, 1985.
- UNDENFRIEND, S. *Fluorescence assay in biology and medicine*. New York: Academic, 1962. p. 270-271.

Tabela 1. Descrição dos cromatogramas detectados sob luz ultravioleta em 254 nm e após exposição a vapores de iodo com as fases móveis clorofórmio : metanol (CM) e clorofórmio: metanol : hidróxido de amônio (CMH)

Amostra	Fase Móvel					
	CM (90:10 v/v)			CMH (90:10:1 v/v)		
	cor	Rf	cor	Rf	Rf	
UV254 = 0,375 μg Iodo = 1,5 μg						
	UV ₂₅₄	Iodo	UV ₂₅₄	Iodo		
Albendazol	EF	castanho amarelado	0,70	EF	castanho amarelado	0,64
Mebendazol	cinza	cinza	0,60	cinza	cinza	0,55
Cambendazol	azul	castanho	0,52	azulo	castanho	0,40
	fluorescente	amarelado		fluorescente	amarelado	
Sulfóxido de Albendazol	EF	castanho amarelado	0,49	EF	castanho amarelado	0,45
Oxibendazol	EF	amarelo claro	0,58	EF	amarelo claro	0,58
Tiabendazol	EF	castanho	0,54	EF	castanho	0,53

EF = Extinção de fluorescência

AGRADECIMENTOS:

Ao CNPq, pelo financiamento da pesquisa. Aos laboratórios Smithkline/Beecham, UCI-Farma e Ciquisa, pelo fornecimento das amostras.

Endereço para correspondência:

Profa. Dr. Ana Maria Bergold
Faculdade de Farmácia da UFRGS
Av. Ipiranga, 2752
90610-000 Porto Alegre RS