

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA NA AVALIAÇÃO DE FORMAS FARMACÊUTICAS LÍQUIDAS CONTENDO ANTITUSSÍGENOS. I. AMBROXOL

PETROVICK, P.R., SILVEIRA, A.M., GALLINA, S.M., CARVALHO, E.L.S., LOPES, E.C.

FACULDADE DE FARMÁCIA DA UFRGS, PORTO ALEGRE, BRASIL.

INTRODUÇÃO : Sob o aspecto de desenvolvimento galênico e de controle de qualidade, formas farmacêuticas podem ser consideradas como misturas complexas. A presença de adjuvantes de formulação, na grande parte das vezes dificulta a avaliação da substância ativa, levando a grandes problemas na avaliação ou na manutenção da qualidade do medicamento. A solução exige o desenvolvimento de metodologia que permita a separação dos diversos componentes de formulação e a quantificação daqueles de interesse. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) representa uma destas metodologias.

O Ambroxol (trans-[(amino-2 dibromo-3,5 benzil) amino]-4 ciclohexanol) é um agente antitussígeno com atividade expectorante potente (MILLER, 1990). BOTTERBLOM et al. determinaram esta substância em amostras de plasma e urina, através de CLAE, empregando coluna C18 e, como fase móvel, acetonitrila : metanol : tampão fosfato 0,01 M, pH 7,0 : tetrahidrofurano (35:35:27,5:2,5).

Na escolha dos adjuvantes de formulação em formas farmacêuticas líquidas, aspectos organolépticos, tal como o sabor, tem influência na aceitação pelo paciente (patient compliance), assim como no cumprimento do esquema terapêutico. O uso da sacarose como adoçante em medicações de longo período de uso tem encontrado restrições, especialmente face suas características cariogênicas e de não adequação a pacientes diabéticos. Sua substituição por edulcorantes de síntese ou de origem vegetal procura contornar estes problemas. Entre os edulcorantes de origem vegetal, o esteviosídeo, extraído das folhas de *Stevia rebaudiana*, tem atraído a atenção de diversos pesquisadores na área de alimentos (KINGHORN, SOEJAR-TO, 1985). O emprego deste adjuvante em medicamentos tem sido objeto de estudo na Faculdade de Farmácia da UFRGS (PETROVICK et al., 1989).

O desenvolvimento de metodologia por CLAE em fase reversa de solução aquosa contendo ambroxol, esteviosídeo e conservante, tem como objetivo a avaliação quantitativa e qualitativa destas misturas e também fornecer subsídios para o estudo da estabilidade destas formulações.

MATERIAL E MÉTODOS : O glicosídeo diterpênico esteviosídeo foi cedido pela firma Ingá (Maringá/PR), o ambroxol pela firma Boehringer (São Paulo SP). Metilparabeno foi adquirido da firma Delaware (Porto Alegre/RS).

Foram preparadas soluções aquosas contendo 0,40 mg de esteviosídeo, 0,08 mg de metilparabeno e 0,40 mg de ambroxol por mililitro. As determinações foram feitas em cromatógrafo líquido de alta eficiência composto por duas bombas Waters 510, controlador de gradiente Waters 680, injetor manual Rheodyne com alça doseadora de 20 microlitros, detector espectrofotométrico Waters 484 e módulo de tratamento de dados Water 746. Foi empregado cartucho Novapak C18 em módulo de compressão radial Waters RCM 8x10. A fase móvel utilizada era constituída de água e acetonitrila, em proporções variadas. Os constituintes foram separadamente filtrados por filtro de membrana FHLF 0013 e desaerados por agitação a pressão reduzida. Em todos os experimentos foram mantidas as seguintes condições: fluxo

1,00 ml/min, comprimento de onda a 215 nm, sensibilidade de detecção de 0,05 AUFS. Os cromatogramas foram registrados a velocidade de 10 cm/min com atenuação de 256.

RESULTADOS E DISCUSSÃO : Os cromatogramas das misturas ternárias encontram-se representados na figura 1. Para a separação A, empregando-se como fase móvel água : acetonitrila (50 : 50), foram obtidos os tres picos correspondentes, em ordem de eluição ao esteviosídeo, ambroxol e metilparabeno, num tempo total de análise de cerca de seis minutos. Embora o pico

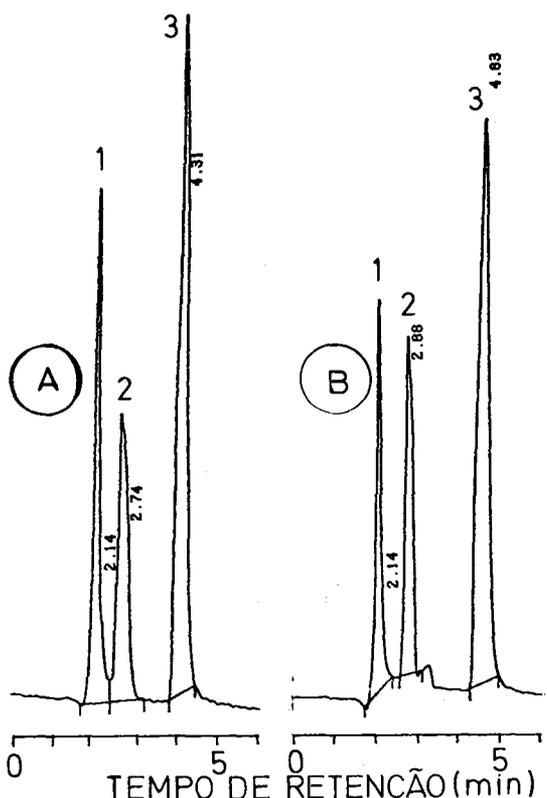


FIGURA 1. Cromatogramas das misturas aquosas de esteviosídeo (1), ambroxol (2) e metilparabeno (3). A = fase móvel água:acetonitrila (50:50), B = fase móvel água: acetonitrila (60:40). Demais condições = vide texto.

do metilparabeno apresente-se bem resolvido, há certa sobreposição dos picos do ambroxol e do esteviosídeo, não impedindo a identificação dos mesmos, mas comprometendo sua avaliação quantitativa. Os fatores de resolução calculados entre os picos do ambroxol com esteviosídeo e com metilparabeno foram, respectivamente 0,755 e 2,09, confirmando a inadequabilidade das condições para doseamento preciso quer da substância ativa, quer do edulcorante, já que a sobreposição de áreas dos picos é maior do que 5%. A diminuição da concentração de acetonitrila para 40% (V/V), não modificou substancialmente a eficiência da separação, verificável pela manutenção dos tempos de retenção dos três picos (figura 1, B). O pico de maior tempo de retenção sofreu um aumento de cerca de 11% em relação às condições anteriores. A resolução entre os sistemas de picos, no entanto, apresentou melhoras sensíveis, especialmente com relação aos picos do ambroxol e do esteviosídeo. O valor do fator de resolução de 1,18 assegura as condições para avaliação quantitativa, com uma superposição de áreas em torno de 2%. A variação do fator de resolução entre os picos do esteviosídeo e do metilparabeno alcançou uma diferença de 56,3%. Com base nestes dados foram calculados os fatores de resposta do detector para as três substâncias isoladamente e comparativamente. Para o esteviosídeo o FR foi de 6099,31, para o ambroxol de 7269,25 e para o metilparabeno de 88917,08. Com relação ao ambroxol as relações das respostas do detector para a mesma concentração foram de 0,839 para o esteviosídeo e de 12,232 para o metilparabeno. A relação entre o esteviosídeo e o metilparabeno foi de 0.069.

Embora o pico do metilparabeno apresente-se bem resolvido, há certa sobreposição dos picos do ambroxol e do esteviosídeo, não impedindo a identificação dos mesmos, mas comprometendo sua avaliação quantitativa. Os fatores de resolução calculados entre os picos do ambroxol com esteviosídeo e com metilparabeno foram, respectivamente 0,755 e 2,09, confirmando a inadequabilidade das condições para doseamento preciso quer da substância ativa, quer do edulcorante, já que a sobreposição de áreas dos picos é maior do que 5%. A diminuição da concentração de acetonitrila para 40% (V/V), não modificou substancialmente a eficiência da separação, verificável pela manutenção dos tempos de retenção dos três picos (figura 1, B). O pico de maior tempo de retenção sofreu um aumento de cerca de 11% em relação às condições anteriores. A resolução entre os sistemas de picos, no entanto, apresentou melhoras sensíveis, especialmente com relação aos picos do ambroxol e do esteviosídeo. O valor do fator de resolução de 1,18 assegura as condições para avaliação quantitativa, com uma superposição de áreas em torno de 2%. A variação do fator de resolução entre os picos do esteviosídeo e do metilparabeno alcançou uma diferença de 56,3%. Com base nestes dados

COCLUSÕES : A cromatografia líquida de alta eficiência, nas condições de fase reversa, com fase estacionária octadecilsilano e fase móvel água : acetonitrila (60 : 40), em desenvolvimento isocrático permite a avaliação qualitativa e quantitativa de ambroxol, esteviosídeo e metilparabeno concomitantemente em misturas aquosas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS :

1. BOTTERBLOM, M.H.A., JANSSEN, T.J., GVELEN, P.J.M. Rapid and Sensitive Determination of Ambroxol in Human Plasma and Urine by High-performance Liquid Chromatography. J. Chromatog. n. 421, p. 211 - 215, 1987.
2. KINGHORN, A.D., SOEJARTO, D.D. Current Status of Stevioside as a Sweetening Agent for Human Use. In : WAGNER, H., HIKINO, H., FARNSWORTH, N.R. (Ed.) Economic and Medicinal Plant Research. v. 1., London : Academic, 1985. Cap. 1, p. 2 - 52.
3. MILLER, D. Antitussives. In : WOLFF, M.E. (Ed.) Burger's Medicinal Chemistry. 4th. ed., New York : John Wiley, 1990. Part III Cap. 5. p. 759 - 785.
4. PETROVICK, P.R., ENE, L.L., MENDA, B.C., SARTOR, I., FOGAÇA, S.C., SILVEIRA, A.M., ALMEIDA, S.H.O. O emprego do esteviosídeo como edulcorante em formulações farmacêuticas. In : SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1, 1989, Porto Alegre, Resumos..., Porto Alegre : Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1989. p. 99.

(CNPq/FAPERGS/PROPEP-UFRGS)